

Mestrado Integrado em Engenharia Química

***Caracterização química de algas disponíveis
comercialmente para consumo humano***

Tese de Mestrado

de

Catarina Sofia Guedes da Costa

Desenvolvida no âmbito da unidade curricular de Dissertação

realizada em

Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto



Orientador na FEUP: Prof. Doutora Maria Arminda Costa Alves

Orientador na FFUP: Prof. Doutora Maria Beatriz Prior Pinto Oliveira



Departamento de Engenharia Química

Julho de 2014

AGRADECIMENTOS

De um modo especial agradeço à Prof. Doutora Beatriz Oliveira por me ter recebido e proporcionado todos os meios necessários para a realização deste estudo, para além da sua total disponibilidade.

Agradeço à Prof. Doutora Arminda Alves por ter proporcionado esta parceria entre a Faculdade de Engenharia e a Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

Agradeço ainda a todos os colegas de laboratório que contribuíram para a minha aprendizagem pessoal e aprofundamento de conhecimento científico em domínios que me eram menos familiares!

RESUMO

Os oceanos cobrem mais de 70% da superfície da Terra e a sua biodiversidade representa uma excecional fonte de recursos naturais. As macroalgas, também conhecidas como algas marinhas, são um excelente exemplo desta biodiversidade e uma fonte rica em compostos químicos com efeitos benéficos à saúde humana.

Neste estudo, foi avaliada a composição nutricional e antioxidante de espécies de algas edíveis, disponíveis no mercado português. Foram analisadas treze amostras de macroalgas das quais, cinco espécies de castanhas, *Laminaria japonica* (Kombu), *Undaria pinnatifida* (Wakame), *Hijikia fusiforme* (Hiziki), *Himanthalia* (Esparguete do mar), *Fucus vesiculosus* (Fucus) e três espécies vermelhas, *Palmaria palmata* (Dulse), *Porphyra tenera* (Nori), *Eisenia* spp. (Arame), de diferentes origens geográficas (Japão, Espanha e França).

Foram analisados o teor de humidade, cinzas, proteína, gordura e hidratos de carbono por métodos AOAC. O perfil de ácidos gordos e da vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis) foram determinados por técnicas cromatográficas, GC-FID e HPLC, respetivamente. Os cloretos foram analisados volumetricamente. A determinação dos minerais foi realizada por ICP-MS e EAA, sendo avaliados os teores de Ca, Mg, P, Mn, Fe, Cu, Se, Zn, I, Cd, Hg, Pb e As. Para a avaliação dos compostos bioativos e da capacidade antioxidante usaram-se métodos espectrofotométricos, sendo as leituras efetuadas num leitor de microplacas UV-Vis.

O teor de proteína variou entre 6,5 e 36 g/100 g e o teor mais elevado foi encontrado nas espécies vermelhas, especialmente na *Porphyra tenera*. O teor de gordura foi inferior a 1 g/100 g, no entanto o seu perfil lipídico apresentou uma interessante mais-valia em algumas amostras. Os hidratos de carbono, que incluem a fibra dietética, variaram entre 42 e 76 g/100 g. As algas vermelhas apresentam valores mais baixos em cloretos. As macroalgas apresentaram elevado teor mineral em cálcio (22,8 mg/g), fósforo (65,0 mg/g), ferro (477,6 µg/g), iodo (84,6 µg/g), zinco (147,9 µg/g) e selénio (57,5 µg/g). Os valores obtidos para os metais pesados foram inferiores aos descritos na bibliografia para outros alimentos provenientes do mar. As espécies com melhores resultados nos compostos fenólicos foram a *Eisenia arborea* e a *Eisenia bicyclis* com 3079,5 e 3559,0 mg EAG/100 g, respetivamente. Verificou-se a mesma tendência na atividade antioxidante, no ensaio do poder redutor FRAP, com 46612,5 e 49268,8 µM ESF/100 g e com capacidade de reduzir o radical DPPH em 54%.

Os resultados deste estudo mostram que as algas analisadas podem ser uma fonte alternativa de proteína e minerais, com baixos teores de gordura e baixo valor calórico. A sua inclusão na dieta parece ser benéfica para a melhoria da saúde e bem estar dos seus consumidores.

Palavras-Chave: macroalgas, análise nutricional, composição em minerais, vitamina E, ácidos gordos, atividade antioxidante.

ABSTRACT

The oceans cover over 70% of the Earth's surface and marine biodiversity represents an exceptional source of natural resources. Macroalgae, also known as seaweed, are an outstanding example of this biodiversity and an excellent source of chemical compounds with benefits for human health.

In this study, the nutritional and antioxidant profile of the widely edible species of seaweed, available in the Portuguese market were evaluated. Thirteen macroalgae samples, five brown species, *Laminaria japonica* (Kombu), *Undaria pinnatifida* (Wakame), *Hijikia fusiforme* (Hiziki), *Himanthalia* (Sea Spaghetti), *Fucus vesiculosus* (Fucus) and three red species, *Palmaria palmata* (Dulse), *Porphyra tenera* (Nori), *Eisenia* spp. (Arame), from different geographical origins (Japan, Spain and France) were analysed.

Moisture, ash, protein, fat and carbohydrate contents were determined through AOAC methods. The fatty acids and vitamin E (tocopherols and tocotrienols) profiles were also evaluated by GC-FID and HPLC, respectively. Chloride content were analysed volumetrically. The determination of mineral composition was performed by ICP-MS and EAA, including the evaluation of Ca, Mg, P, Mn, Fe, Cu, Se, Zn, I, Cd, Hg, Pb and As contents. For the evaluation of bioactive compounds and the antioxidant capacity spectrophotometric methods were applied, using a microplates reader UV-Vis.

Protein levels ranged from 6.5 to 36 g/100 g and the highest content was found in red species, especially in *Porphyra tenera*. The fat content was less than 1 g/100 g, however the lipid profile showed interesting properties in some species. The carbohydrate content, which includes the dietary fiber, ranged between 42 and 76 g/100 g. Red algae have lower values on chloride contents. Macroalgae are rich in various minerals such as calcium (22.8 mg/g) phosphorous (65.0 mg/g), iron (477.6 µg/g), iodine (84.6 µg/g), zinc (147.9 µg/g), and selenium (57.5 µg/g). The values of heavy metals are lower than other seafood. *Eisenia arborea* and *Eisenia bicyclis* were the species with the best result in phenolic compounds, 3 079.5 and 3 559.0 mg GAE/100 g. There was the same trend in the reducing power assay FRAP, with 46 612.5 and 49 268.8 µM FSE/100 g and they are the species with more capacity to reduce DPPH radical in 54%.

The results of this study show that the analysed macroalgae can be interesting sources of alternative protein, minerals, poor sources of fat and an ingredient with low caloric values. Its inclusion in a diet could be benefic to improve health and wellbeing of their consumers.

Keywords: macroalgae, nutritional analysis, minerals composition, vitamin E, fatty acids, antioxidant activity.

DECLARAÇÃO

Declaro, sob compromisso de honra, que este trabalho é original e que todas as contribuições não originais foram devidamente referenciadas com identificação da fonte.

Catarina Costa, 26 de julho de 2014

ÍNDICE

1. Introdução	1
1.1. Crescimento Populacional e Sustentabilidade	1
1.2. As Macroalgas - Riqueza Oceânica	2
1.3. Crescente Interesse nas Macroalgas	2
1.4. Produção de Macroalgas em Aquacultura	3
1.5. Macroalgas - Impacto na Saúde Humana	3
1.5.1. Qualidades Nutricionais das Algas	3
1.5.2. Macroalgas como alimento funcional	4
1.5.3. Benefícios Implícitos no Consumo de Algas	4
1.6. Pertinência do Estudo.....	5
2. Objetivos	6
2.1. Objetivo Geral	6
2.2. Objetivos Específicos	6
3. Metodologias.....	7
3.1. Amostragem.....	7
3.2. Reagentes e Padrões	8
3.3. Equipamentos	9
3.4. Preparação das Amostras	10
3.5. Determinação do Teor de Humidade	10
3.6. Determinação do Teor de Cinzas	10
3.7. Determinação dos Cloretos Totais	11
3.8. Determinação do Teor de Proteína	11
3.9. Determinação do Teor de Lípidos Totais	12
3.10. Determinação da Composição em Ácidos Gordos	12
3.10.1. Derivatização	12
3.10.2. Análise Cromatográfica	13

3.11. Determinação do Teor de Vitamina E	13
3.11.1. Preparação das Amostras	13
3.11.2. Análise Cromatográfica	14
3.12. Determinação do Teor Total de Hidratos de Carbono	14
3.13. Determinação da Composição em Minerais	14
3.13.1. Preparação das Amostras	15
3.13.2. Digestão Ácida das Amostras	15
3.13.3. Análise do Fósforo	15
3.13.4. Análise de Macrominerais	16
3.13.5. Análise de Microminerais e Metais Pesados	16
3.14. Determinação de Clorofilas e Carotenoides	16
3.15. Preparação dos Extratos	17
3.16. Determinação dos Compostos Fenólicos Totais	18
3.17. Determinação da Atividade Antioxidante	18
3.17.1. Inibição do DPPH•	19
3.17.2. FRAP	19
4. Resultados e Discussão	20
4.1. Análise Nutricional	20
4.2. Análise do Perfil Antioxidante	35
5. Conclusões	39
5.1. Perspetivas de Trabalho Futuro	39
Referências	40
Anexo 1 Informação nutricional disponibilizada nos rótulos das macroalgas	47
Anexo 2 Exemplo de cromatogramas obtidos para a determinação da composição em ácidos gordos	48
Anexo 3 Exemplo de cromatogramas obtidos para a quantificação do teor em vitamina E	49

LISTA DE ABREVIATURAS

AG, ácidos gordos

DP, desvio padrão

DPPH•, radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo

EAA, *Emission and Absorption Spectroscopy* (espectroscopia de absorção atômica)

EAG, equivalentes de ácido gálgico

ESF, equivalentes de sulfato ferroso

FAME, *fatty acids methyl esters* (ésteres metílicos dos ácidos gordos)

FAO, *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (Organização de Alimentação e Agricultura das Nações Unidas)

GC-FID, *Gas Chromatography with Flame Ionization Detector* (cromatografia gasosa com deteção de ionização de chama)

HPLC-FLD, *High Performance Liquid Chromatography with Postcolumn Fluorescence Derivatization* (cromatografia líquida de alta performance com deteção por fluorescência)

ICP-MS, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (espetrometria de massa com plasma indutivamente acoplado)

MUFA, *monounsaturated fatty acids* (ácidos gordos monoinsaturados)

PI, padrão interno

PUFA, *polyunsaturated fatty acids* (ácidos gordos polinsaturados)

RFC, reagente de Folin-Ciocalteu

ROS, *reactive oxygen species* (espécies reativas de oxigénio)

rpm, rotações por minuto

SFA, *saturated fatty acids* (ácidos gordos saturados)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Amostras de algas moídas prontas para análise	10
Figura 2.	Extratos hidroalcoólicos 50:50 de amostras aleatórias	18
Figura 3.	Correlação entre os compostos fenólicos totais (mg/100 g de amostra) e a % de inibição do DPPH•	36
Figura 4.	Correlação entre os compostos fenólicos totais (mg/100 g de amostra) e o FRAP (μ M ESF/100 g de amostra)	37
Figura 5.	Correlação entre as clorofilas (mg/100 g de amostra) e os carotenoides (mg/100 g de amostra)	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Espécies de macroalgas selecionadas para o estudo; especificação em categoria, espécie, designação comercial e origem	8
Tabela 2.	Espécies de macroalgas analisadas	20
Tabela 3.	Composição nutricional das algas analisadas	22
Tabela 4.	Composição em ácidos gordos (%) das algas analisadas	26
Tabela 5.	Composição dos diferentes vitâmeros de vitamina E nas algas analisadas	29
Tabela 6.	Composição em minerais essenciais das algas analisadas	31
Tabela 7.	Composição em metais pesados das algas analisadas	34
Tabela 8.	Resultados da avaliação dos compostos bioativos e da atividade antioxidante das algas analisadas	36

1. INTRODUÇÃO

1.1. CRESCIMENTO POPULACIONAL E SUSTENTABILIDADE

O relatório da Organização das Nações Unidas (ONU), estima que a população mundial aumente dos atuais 7200 milhões para 9600 milhões em 2050 e quase 11000 milhões em 2100. O maior crescimento demográfico ocorrerá nos países em desenvolvimento e será superior a 1000 milhões de pessoas até 2050; a Índia será o país mais populoso do planeta, ultrapassando a China; e a Europa verá a sua população diminuir cerca de 14%. A população no resto do mundo não deverá aumentar mais do que 10% entre 2013 e 2100 (United Nations, 2013).

As necessidades alimentares mundiais irão sofrer um aumento significativo, devido não só ao aumento populacional nos países em desenvolvimento, mas também devido à melhoria e maior ingestão alimentar dos países desenvolvidos. Desta forma, garantir o fornecimento de alimentos a toda a população será um desafio global.

A incessante e descontrolada exploração de recursos que se pratica atualmente, não promove um desenvolvimento sustentável. Este conceito ganhou relevo em 1980 quando a organização *International Union for the Conservation of Nature* (IUCN) apresentou ao mundo a Estratégia de Conservação Global, com o objetivo de atingir um desenvolvimento sustentável, através da conservação dos recursos existentes (Lélé, 1991). Presentemente, considera-se o conceito de sustentabilidade bastante mais complexo, pois envolve não apenas a noção ambiental e social de responder às necessidades das gerações atuais sem comprometer o futuro das próximas (Bond e Morrison-Saunders, 2011), englobando ainda a vertente económica do problema.

Urge, assim, explorar de forma controlada os recursos naturais existentes e criar sinergias e novas oportunidades entre os diversos setores. É fundamental encontrar novas fontes sustentáveis e matérias-primas que respondam às necessidades crescentes da população, tanto as nutricionais como as medicinais.

Se, por um lado, o próprio consumidor está cada vez mais preocupado e atento com o impacto do processamento e da distribuição dos alimentos na sua saúde, por outro lado também está mais crítico e exigente. Quer ser informado acerca da qualidade nutricional e fitoquímica dos alimentos que consome, da sua origem, dos processos de produção, dos níveis de segurança, da higiene, da presença de produtos químicos e outras questões ambientais associadas (Falguera, *et al.*, 2012). Os produtores deverão, assim, responder a estes requisitos, aumentando a sustentabilidade das cadeias de produção de alimentos (Wognum *et al.*, 2011).

1.2. AS MACROALGAS - RIQUEZA OCEÂNICA

A água cobre cerca de 70% da superfície da Terra, sendo 97% deste volume água salgada dos mares e oceanos. Os oceanos são uma fonte de diversidade e riqueza biológica, sendo o habitat natural para milhares de plantas, animais e diversos tipos de microrganismos que contribuem para cerca de 50% da biodiversidade global (Dawczynshi *et al.*, 2007). As macroalgas, vulgarmente conhecidas como algas marinhas, são algas macroscópicas que se encontram habitualmente nas orlas costeiras, exibindo grande diversidade de espécies, cores, formas e tamanhos, podendo atingir 70 m de comprimento e crescer 50 cm por ano. Consequentemente podem formar verdadeiras florestas aquáticas em algumas zonas litorais (El Gamal, 2010; Pereira, 2009).

As macroalgas apresentam colorações extremamente variadas, resultantes da combinação dos diferentes pigmentos fotossintéticos presentes nas suas células, essencialmente clorofilas e carotenoides. As macroalgas são assim classificadas em três grandes classes com base na sua pigmentação: *Chlorophyta* (algas verdes), *Rhodophyta* (algas vermelhas) e *Phaeophyta* (algas castanhas) (Grason, 1989). Segundo Pereira (2009), estima-se que a nível mundial existam entre 7500 e 10000 espécies de macroalgas, sendo cerca de 1500 verdes, 2000 castanhas e as vermelhas as restantes.

1.3. CRESCENTE INTERESSE NAS MACROALGAS

As algas já foram usadas como alimento durante alguns séculos, mas foram esquecidas por algum tempo no mundo moderno. No entanto, com a procura de novos alimentos para solucionar as futuras necessidades alimentares, tem sido dado, de novo, particular interesse às macroalgas. O seu potencial económico é agora bastante diversificado, não se limitando apenas à área alimentar e farmacêutica, mas abrangendo várias indústrias relacionadas com a produção de têxteis, combustíveis, biofertilizantes, tintas, plásticos e cosméticos (Cardozo *et al.*, 2007).

É reconhecido nestas plantas marinhas o seu potencial de aplicação no setor alimentar. Inclusive, tem aumentado a introdução direta de macroalgas na alimentação, nas décadas recentes, particularmente, pelo seu valor nutricional (Mabeau e Fleurence, 1993; Darcy-Vrillon, 1993) e terapêutico (Van Netten *et al.* 2000). Ainda assim, as macroalgas continuam a ser consideradas um recurso natural pouco explorado em países europeus, onde o consumo de algas ronda as 70 toneladas de produto desidratado/ano (estima-se que 27 toneladas/ano apenas em França) contrastando significativamente com 97000 toneladas/ano ingeridas somente no Japão (Darcy-Vrillon, 1993).

1.4. PRODUÇÃO DE MACROALGAS EM AQUACULTURA

A Humanidade desde sempre estabeleceu uma relação de profunda dependência com os oceanos. Uma grande parte da variedade de recursos tem sido explorada pelo Homem até à exaustão. Consequentemente, e tendo em consideração o caminho que conduz à sustentabilidade, a aquacultura, produção de peixes e plantas marinhas em viveiro, tem crescido mundialmente com uma média anual de 9% desde 1970 até 2010. A China é atualmente o maior produtor com 30% da produção global de aquacultura (FAO, 2012a).

No entanto, relativamente à produção de macroalgas em viveiro, conclui-se que poucos países se dedicam a esta atividade, talvez pelo ainda reduzido mercado que este produto enquanto alimento apresenta. A China, contudo, tem uma produção de 11,1 milhões de toneladas, seguida da Indonésia com 3,9 milhões e das Filipinas com quase 2,0 milhões de toneladas de algas de aquacultura. As espécies de macroalgas mais produzidas são *Saccharina* sp., *Laminaria* sp., *Porphyra* sp., *Gracilaria* sp., *Eucheuma* sp. e *Undaria* sp. representando 98,9% da produção mundial (FAO, 2012a). Uma das espécies mais consumidas pelos japoneses é a alga Nori (*Porphyra* sp.) comercializada a 25 dólares/kg gerando um impacto económico de cerca de 1500 milhões de dólares no país (Ohno e Largo, 1998).

A aquacultura garante, de uma forma eficiente, o controlo da produção e do crescimento das espécies, proporcionando as melhores condições para o desenvolvimento de todas as suas potencialidades nutricionais.

1.5. MACROALGAS - IMPACTO NA SAÚDE HUMANA

1.5.1. QUALIDADES NUTRICIONAIS DAS ALGAS

Desde tempos ancestrais que as algas fazem parte dos hábitos alimentares dos países orientais, como o Japão, China e Coreia constituindo entre 10% a 25% do total de alimentos ingeridos pela população. O consumo médio semanal de macroalgas nestes países corresponde a 8 g desidratadas (Skibola, 2004 e Teas, 1981). Estima-se que existam cerca de 145 espécies de macroalgas que são consumidas (Zemke-White e Ohno, 1999).

Estes vegetais marinhos podem ser ingeridos crus, em saladas, cozinhados em sopas ou refeições, utilizados como condimentos, chás ou corantes naturais (Pangestuti e Kim, 2011; Dawczynski *et al.*, 2007). São ainda bastante utilizados como ingredientes alimentares em espessantes, emulsionantes e/ou estabilizadores (McHugh, 1987).

Diversos estudos revelam que as algas têm elevado valor nutritivo destacando o seu elevado teor proteico, mineral, vitamínico, presença de fibras dietéticas, de polissacarídeos e de

aminoácidos essenciais. Têm baixo teor calórico, em parte justificado pelo baixo teor em gordura (Maehre *et al.*, 2014; Holdt e Kraan, 2011; Gressler *et al.*, 2010; Dawczynski *et al.*, 2007).

No entanto, a qualidade nutricional desta matriz alimentar sofre variações significativas, diretamente relacionadas com a espécie, localização geográfica de origem, sazonalidade da colheita, condições ambientais (luz, temperatura e salinidade da água do local de origem das macroalgas), entre outros fatores (Murata e Nakazoe, 2001; Kaehler e Kennish, 1996). Realça-se, assim, a aquacultura como um excelente meio de exploração sustentável e em larga escala deste alimento, pela possibilidade de controlar alguns fatores responsáveis pelas variações nutricionais.

1.5.2. MACROALGAS COMO ALIMENTO FUNCIONAL

Sempre foi reconhecido o impacto de uma boa alimentação na saúde humana. O aprofundamento do conhecimento do alimento e a sua relação com a saúde é agora usado para melhorar a alimentação e bem-estar das populações, procurando “super alimentos” na natureza. Assim, hoje em dia fala-se em alimentos funcionais, termo que designa um alimento que reflete benefícios na saúde, além de promover a nutrição básica do indivíduo. Estes alimentos funcionais promovem benefícios, diminuindo o risco de doenças e melhorando a capacidade do organismo no combate a agressões, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida em geral. As algas são conhecidas pela sua riqueza macronutricional, em minerais, vitaminas e por conterem compostos bioativos como os polifenóis e pigmentos (β -caroteno) que lhe conferem atividade antioxidante (Fleurence *et al.*, 2012; Holdt e Kraan, 2011; Quirós *et al.*, 2008; Muraka e Nakazoe, 2001).

O grande potencial das macroalgas pode enquadrá-las na categoria de alimento funcional (Plaza *et al.*, 2008), seja através da sua **utilização direta**, em **suplementos** ou através da **extração de componentes**.

1.5.3. BENEFÍCIOS IMPLÍCITOS NO CONSUMO DE ALGAS

Do ponto de vista da saúde humana, as macroalgas têm ganho importância devido às suas propriedades e elementos bioativos com capacidade biológica promotora da saúde humana. Os metabolitos encontrados nestes alimentos são descritos em diversas publicações como tendo propriedades biológicas como antidiabéticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorais, antivirais, antimutagénicas, antifúngicas, anti-inflamatórias, antioxidantes, anti-hipertensivas, neuroprotetoras, entre outras (El Gamal, 2010; Pangestuti e Kim, 2011; Kumar *et al.*, 2008).

Estudos epidemiológicos demonstraram que a incidência anual de cancro da mama no Japão e na China foi de 42,2 e 13,1 casos, respetivamente, em cada 100000 pessoas. Estes valores contrastam com os 125,9 casos na América do Norte e 106,2 casos na Europa no mesmo período. Do mesmo modo, a incidência de cancro da próstata é de 10,4 e 0,7 em cada 100000 pessoas no Japão e na China *versus* 117,2 e 53,1 casos na América do Norte e Europa, respetivamente (Pisani *et al.*, 2002 e Lacey *et al.*, 2002). Os resultados destes estudos concluem que a baixa incidência de cancro da mama e da próstata no Japão e na China estão relacionados com fatores ambientais, incluindo o tipo de alimentação praticada nestes países orientais, na qual as macroalgas podem representar até 25% do total de alimentos ingeridos pela população.

Este tipo de alimentação não é muito seguido nos países europeus, por não fazer parte da sua tradição alimentar, incluindo Portugal, mas a sua introdução na dieta alimentar ocidental poderia trazer tantos ou mais benefícios quando comparado com outros alimentos como os vegetais terrestres. Além disso, a versatilidade na cozinha no uso de algas pode ser tão grande quanto os consumidores quiserem.

1.6. PERTINÊNCIA DO ESTUDO

Tanto quanto é dado saber, não há exploração de macroalgas na costa portuguesa, ou eventual produção de aquacultura, em Portugal, no âmbito do tema de trabalho desta tese de mestrado. A inexistência de produtos nacionais comercializados (todas as amostras têm origem externa) é prova dessa falta de produção e de desenvolvimento no setor.

O estudo da caracterização de algas edíveis disponíveis no mercado nacional é uma área com poucos estudos publicados, justificando o desenvolvimento deste trabalho. Por outro lado, é necessário conhecer este tipo de informação nutricional e proceder à sua divulgação, para que o consumidor possa fazer as suas escolhas, devidamente informado. Também os produtores, distribuidores e possíveis empreendedores beneficiam de um estudo deste tipo, podendo levar ao desenvolvimento do setor em Portugal.

O presente trabalho é um estudo preliminar que pretende caracterizar quimicamente esta matriz, que, aos poucos, está a ser introduzida no mercado nacional alimentar.

Tendo em conta a possível aceitabilidade do consumidor, e considerando as macroalgas um alimento rico em proteínas e minerais, terá todo o interesse o estudo de espécies de algas da orla costeira portuguesa, de forma a promover a exploração sustentável das espécies nacionais.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como principal objetivo caracterizar quimicamente algas comerciais que se encontram disponíveis para consumo humano.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição nutricional;
- Estudar o perfil lipídico (composição em ácidos gordos e vitamina E);
- Determinar a composição em minerais;
- Determinar a capacidade antioxidante de extratos obtidos em condições específicas.

3. METODOLOGIAS

Todos os ensaios decorreram em laboratórios do REQUIMTE (Laboratório Associado para a Química Verde) no Departamento de Ciências Químicas da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, sob responsabilidade da Prof. Doutora Beatriz Oliveira.

Este capítulo descreve as metodologias usadas na avaliação da composição química das macroalgas, nomeadamente da análise nutricional e da avaliação do perfil antioxidante.

Apesar dos métodos analíticos utilizados já se encontrarem implementados e validados no laboratório, houve necessidade de adaptação dos mesmos à matriz em estudo. Consequentemente, efetuaram-se processos de otimização ao procedimento dos métodos analíticos, no entanto, neste documento apenas é descrita a metodologia final implementada para a análise.

3.1. AMOSTRAGEM

Estão disponíveis no mercado português várias espécies de algas para consumo humano, comercializadas embaladas e desidratadas para consumo humano, de diferentes produtores e oriundas de diferentes locais. Segundo a pesquisa feita, estão disponíveis no mercado as seguintes algas:

- Macroalga verde: Alface do Mar (*Ulva lactuca*);
- Macroalgas castanhas: Kombu (*Laminaria sp.*), Wakame (*Undaria pinnatifida*), Hiziki (*Hijikia fusiforme*), Esparguete do Mar (*Himanthalia sp.*) e Fucus (*Fucus sp.*);
- Macroalgas vermelhas: Nori (*Porphyra sp.*), Arame (*Eisenia sp.*), Dulse (*Palmaria palmata*) e Musgo da Irlanda (*Chondrus crispus*).

Foram adquiridas em lojas especializadas da zona do grande Porto, 8 das 10 espécies de algas comerciais, uma vez que as restantes não se encontraram disponíveis em tempo útil para a realização dos estudos. As amostras analisadas encontram-se descritas na Tabela 1.

Analisaram-se assim 13 amostras de macroalgas, 5 amostras de algas vermelhas (3 espécies) e 8 amostras de algas castanhas (5 espécies), de diferentes origens (Japão, Espanha e França) e com diferentes designações comerciais. A informação disponibilizada na rotulagem de cada amostra está contida no Anexo 1.

Tabela 1. Espécies de macroalgas selecionadas para o estudo; especificação em categoria, espécie, designação comercial e origem.

Categoria	Amostra	Espécie	Designação Comercial	Origem
Algas Castanhas	L.J. ^g	<i>Laminaria japonica</i>	Kombu	Galiza
	L.J. ^j			Japão
	U.P. ^g	<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakame	Galiza
	U.P. ^j			Japão
	H.F. ^{j1}	<i>Hijikia fusiforme</i>	Hiziki	Japão
	H.F. ^{j2}			Japão
	Hm. ^g	<i>Himanthalia</i>	Esparguete do mar	Galiza
Algas Vermelhas	F.V. ^f	<i>Fucus vesiculosus</i>	Fucus	França
	P.T. ^g	<i>Porphyra tenera</i>	Nori	Galiza
	P.T. ^j			Japão
	E.A. ^j	<i>Eisenia arborea</i>	Arame	Japão
	E.B. ^j	<i>Eisenia bicyclis</i>		Japão
	P.P. ^g	<i>Palmaria palmata</i>	Dulce	Galiza

g, macroalga originária de Espanha (Galiza); j, macroalga originária do Japão;
f, macroalga originária de França

3.2. REAGENTES E PADRÕES

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

- Cloretos: cromato de potássio (K_2CrO_4) e nitrato de prata ($AgNO_3$) da Merck (Darmstadt, Alemanha)
- Proteínas: pastilhas catalisadoras Kjeldahl ($Na_2S_2O_8/CuSO_4$) e ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado 96% da Merck (Darmstadt, Alemanha); hidróxido de sódio (NaOH) da VWR International (Leuven, Bélgica); ácido bórico (H_3BO_3) da Panreac (Barcelona, Espanha).
- Lípidos: sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) da Merck (Darmstadt, Alemanha); éter de petróleo da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA).
- Ácidos gordos: metanol da VWR International (Leuven, Bélgica); hidróxido de potássio (KOH) da Panreac (Barcelona, Espanha); n-hexano HPLC da Merck (Darmstadt, Alemanha); trifluoreto de boro (BF_3) da Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA); mistura de padrões de ácidos gordos (FAME 37, Supelco, Bellefonte, PA, USA).
- Vitamina E: n-hexano HPLC da Merck (Darmstadt, Alemanha); 1,4-dioxano da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); padrões de tocoferóis e tocotrienóis: α , β , γ , δ -tocoferol e α , β , γ , δ -tocotrienol da Calbiochem (La Jolla, CA, EUA); padrão interno de tocol: 2-metil-2-(4,8,12-trimetil tridecil)-cromano-6-ol da Matreya Inc (PA, EUA).

- Análise mineral: heptamolibdato de amónio tetrahidratado, dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4) e ácido sulfúrico da Merck (Darmstadt, Alemanha); ácido nítrico (HNO_3) 65%, peróxido de hidrogénio (H_2O_2) 30%, ácido ascórbico, tartarato de antimónio e potássio e padrões de Ca, Mg e Fe da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); material de referência certificado (CRM) BCR 679 (couve branca) do Instituto de Materiais de Referência e Medidas (Geel, Bélgica); soluções padrão da AccuTrace (AccuStandart, New Haven, CT); argon 99,9999% da Air Liquide (Maia, Portugal).
- Extração dos compostos bioativos: etanol absoluto da Fisher Chemical (Loughborough, Inglaterra).
- Compostos fenólicos totais: carbonato de sódio (Na_2CO_3) e ácido gálico da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA); reagente de Folin-Ciocalteu da Merck (Darmstadt, Alemanha).
- Atividade antioxidante: DPPH•, solução de TPTZ, acetato de sódio, ácido acético glacial, cloreto férrico e sulfato ferroso da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA).

3.3. EQUIPAMENTOS

- Moinho Grindomix GM 200 (Retsch, Haan, Alemanha)
- Balança de humidade Scaltec® SMO 01 (Scaltec Instruments Heiligenstadt, Alemanha)
- Mufla Thermolyne 48000 (Electrothermal Engineering Ltd, Essex, Reino Unido)
- Digestor automático Kjeldahl K-438 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça)
- Neutralizador de gases B-414 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça)
- Destilador automático K-360 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça)
- Estufa (WTB binder 78532, Tuttlingen, Alemanha)
- Centrífuga (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Heraeus Instruments, Alemanha)
- Microcentrífuga (Heraeus Sepatech Biofuge Pico, Heraeus Instruments, Alemanha)
- Vortex (VWR International, Darmstadt, Alemanha)
- HPLC-FLD (Jasco, Japão)
- Manta de aquecimento (FALC, Reagente 5, Portugal)
- GC-FID (GC- 2010, Shimadzu, Columbia)
- Sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Billerica, EUA)
- Micro-ondas de digestão Milestone MLS 1200 (Soriso, Itália)
- EAA, Perkin Elmer 3100 (Überlingen, Alemanha)
- ICP-MS VG Elemental (Winsford, Reino Unido)
- Placa de agitação (Variomag, Telemodul 40 CT, H+P Labortechnik, Alemanha)
- Leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GENS5, EUA)
- Espectrofotómetro UV-1800 (Shimadzu - UV spectrophotometer, Kyoto, Japão)

3.4. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os alimentos são considerados matrizes complexas e bastante heterogêneas, pelo que é necessário reduzir o tamanho das partículas e homogeneizar a amostra antes da sua análise. Desta forma, garantem-se resultados mais fidedignos devido ao facto da amostragem ser mais representativa. Assim, a etapa de preparação da amostra é fundamental para o sucesso da análise química.

Todas as amostras foram trituradas e homogeneizadas entre 30-90 segundos, utilizando um moinho Grindomix GM 200 (Retsch, Haan, Alemanha) até às 10 000 rpm. No entanto, dependendo das características da própria alga e até da secagem de origem, em alguns casos teve que se recorrer a uma pré-trituração numa picadora de uso doméstico. De seguida, as amostras foram devidamente acondicionadas e identificadas em frascos de amostragem até serem analisadas, Figura 1.

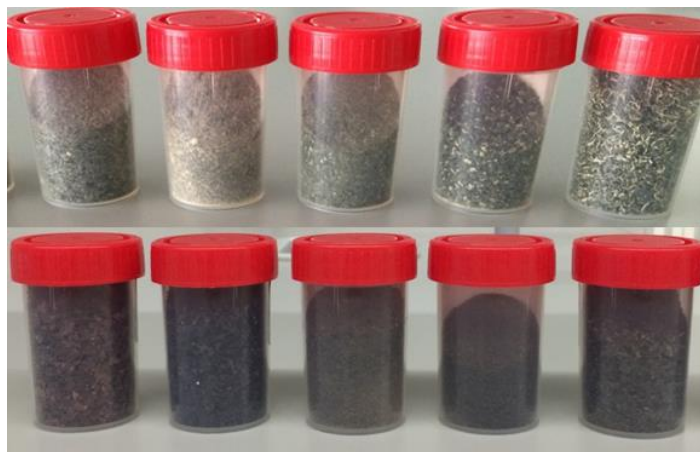


Figura 1. Amostras de algas moídas prontas para análise.

3.5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE HUMIDADE

O teor de humidade foi determinado instrumentalmente, utilizando uma balança equipada com uma lâmpada de infravermelhos Scaltec® SMO 01 (Scaltec Instruments, Alemanha). Assim, uma toma de aproximadamente 2 g de amostra foi submetida a uma temperatura de 105 °C, até massa constante. As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em percentagem (%) de humidade.

3.6. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS

O teor de cinzas foi determinado por incineração direta de 5 g de amostra em mufla aquecida gradualmente até 500-550 °C (Thermolyne 48000, Electrothermal Engineering Ltd, Essex,

Reino Unido) seguindo o método oficial da AOAC (AOAC 920.153, 2000). Após obtenção de cinzas esbranquiçadas a cápsula foi colocada a arrefecer em exsiccador, seguindo-se a sua pesagem. As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em g/100 g de amostra em peso seco.

3.7. DETERMINAÇÃO DOS CLORETOS TOTAIS

A amostra, 5 g, foi incinerada pelo método de obtenção de cinzas acima descrito. As cinzas foram transferidas para um balão volumétrico de 100 ml, às quais foram adicionadas três porções de 30 ml de água quente desionizada, lavando a cápsula e o funil e transferindo estas águas de lavagem para o balão volumétrico. Após arrefecimento completou-se o volume e filtrou-se a solução. Transferiu-se uma alíquota de 10 ml para um frasco Erlenmeyer ao qual se adicionou o indicador, duas gotas de cromato de potássio (K_2CrO_4) 10%. A solução foi titulada com nitrato de prata ($AgNO_3$) 0,1 M até ao aparecimento de um precipitado vermelho-tijolo (Instituto Adolfo Lutz, 1985). As análises foram efetuadas em triplicado e os resultados expressos em g ($NaCl$ e Cl^-)/100 g de amostra em peso seco.

3.8. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE PROTEÍNA

O teor proteico foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC 928.08, 2000), quantificando o azoto total presente nas amostras em estudo. Cerca de 0,5 g de amostra foram pesadas em papel isento de azoto e colocadas num tubo de Kjeldahl, adicionando duas pastilhas catalisadoras, Kjeldahl tablets, e 20 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado 96%. A digestão ácida foi efetuada no digestor automático K-438 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça) e os gases recolhidos no neutralizador de gases Scrubber B-414 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça). Desta forma, a matéria orgânica foi destruída por oxidação e o azoto orgânico originou sais de amónio. Após a alcalinização do meio com 90 ml de hidróxido de sódio ($NaOH$) 32%, liberta-se amoníaco que, por destilação automática na unidade de destilação K-360 (Büchi®, Büchi Labortechnik AG, Suíça), é recolhido em 60 ml de ácido bórico (H_3BO_3) 4 % (pH=4,65), segundo o manual Büchi Labortechnik AG (2007). Esta solução foi posteriormente titulada com H_2SO_4 0,1 M usando como indicador o vermelho de metilo. Na determinação do teor de proteína das amostras, os resultados da quantificação do azoto total foram multiplicados pelo fator de conversão 6,25 (FAO, 2002b). As análises foram realizadas em triplicado e os resultados expressos em g/100 g de amostra em peso seco.

3.9. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE LÍPIDOS TOTAIS

O teor de lípidos totais foi determinado pelo método de Soxhlet (AOAC 991.36, 2000). Para tal, pesou-se 5 g de amostra, à qual se adicionou uma quantidade suficiente de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), para absorção da humidade, e areia para não colmatar à passagem do solvente. A mistura desumidificada foi transferida para cartuxos de celulose, seguidamente colocados em ampolas de extração do dispositivo de Soxhlet. A extração foi efetuada a quente, com éter de petróleo, durante 8 horas, para balões volumétricos previamente tarados e identificados. Uma vez terminada a extração e recuperado o solvente, procedeu-se à secagem da gordura extraída e evaporação do solvente remanescente, em estufa a 100 °C, onde permaneceram durante períodos de 1 hora. De seguida foram arrefecidos no exsiccador e pesados até obtenção de massa constante. As análises foram feitas em triplicado e os resultados apresentados em g/100 g em peso seco.

3.10. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GORDOS

A determinação da composição em ácidos gordos foi efetuada em gordura extraída pelo método acima descrito e analisada por cromatografia gasosa com deteção por ionização de chama (GC-FID).

A derivatização dos ácidos gordos em ésteres metílicos (FAME) foi efetuada de acordo com Shanta e Ackman (1990), com algumas alterações. O processo de transesterificação dos lípidos fez-se em meio alcalino e a metilação deu-se na presença de um catalisador o trifluoreto de boro (BF_3 14% em metanol, solução comercial).

3.10.1. DERIVATIZAÇÃO

Assim, segundo Fernandes *et al.* (2012) a gordura foi extraída em n-hexano e levada à secura em azoto. Adicionaram-se 1,5 ml de solução metanólica de hidróxido de potássio 0,5 M e a mistura foi aquecida a 100 °C durante 10 minutos. Depois de arrefecer foram adicionados 2 ml de trifluoreto de boro (BF_3) à solução aquosa e colocado em estufa novamente a 100 °C durante 30 minutos. De seguida adicionaram-se 2 ml de água ultrapura e 5 ml de n-hexano. As amostras foram agitadas em vortex (VWR International) e centrifugadas (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Heraeus Instruments, Alemanha) a 3000 rpm durante 5 minutos para separação das fases aquosa e orgânica. Após repouso o sobrenadante foi transferido para um vial âmbar de 4 ml com um pouco de Na_2SO_4 , para retirar vestígios de água. De seguida a fase orgânica foi transferida para um vial Supelco âmbar de 2 ml, para injetor automático, com rolhas perfuráveis, e conservado a -20 °C até ao momento da análise cromatográfica.

3.10.2. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

Para a análise cromatográfica dos FAME utilizou-se um cromatógrafo gasoso Shimadzu GC-2010 com um detetor de ionização de chama (Shimadzu, Columbia). O cromatógrafo estava equipado com uma coluna capilar de sílica fundida CP-SIL 88 (Varian, Middelburg, The Netherlands; 50 mm x 0,25 mm diâmetro interno, 0,19 µm de espessura de filme). Usaram-se as seguintes condições analíticas: corrente gasosa de hélio, à pressão interna inicial de 120 kPa; temperatura da coluna 120 °C durante 5 minutos, programada para aumentar até 220 °C à velocidade de 3 °C/minuto, permanecendo a esta temperatura durante 10 minutos; temperatura do injeção e do detetor de 250 °C e 270° C, respetivamente; razão de split: 1:50; volume de injeção 1,0 µL. Cada injeção foi efetuada em duplicado. Os FAME foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras com os da mistura de padrões de FAME. Para o tratamento dos dados recorreu-se ao software GS Solution (versão 2.30, Shimadzu GC Solution, Shimadzu, Columbia). Cada FAME foi expresso em % de peso dos FAME totais presentes no cromatograma (Fernandes *et al.*, 2012; Casal e Oliveira, 2007).

3.11. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE VITAMINA E

A determinação do teor de vitamina E fez-se a partir de gordura extraída pelo método de Soxhlet. Para a identificação dos compostos individuais prepararam-se soluções padrão em n-hexano (28; 21; 14; 7; 3; e 1,5 mg/ml) contendo os seguintes vitâmeros: α, β, γ, δ-tocoferol e α, β, γ, δ-tocotrienol. Cada uma destas soluções continha 20 µL de padrão interno (PI) de tocol, 1 mg/ml.

3.11.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A preparação das amostras para análise consistiu na pesagem rigorosa de 2 gotas de gordura para eppendorf, às quais se adicionaram 20 µL de PI, perfazendo-se o volume a 1 ml com n-hexano. Agitou-se a mistura em vortex (VWR International) e centrifugou-se (Heraeus Sepatech Biofuge Pico, Haraeus Instruments, Alemanha) a 13000 rpm, durante 3 minutos. O sobrenadante foi transferido para tubos Supelco âmbar de 2 ml, para injetor automático, com rolhas perfuráveis, e conservado a -20 °C até posterior análise através de cromatografia líquida de alta performance com deteção por fluorescência (HPLC-FLD) (Alves *et al.*, 2009).

3.11.2. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

A análise cromatográfica foi realizada num sistema HPLC da Jasco (Japão) equipado com um injetor automático (AS-950), uma bomba (PU-980) e um detetor de fotodíodos (MD-910) acoplado a um detetor de fluorescência, FID (FP-920). A separação cromatográfica foi efetuada numa coluna de fase normal Supelcosil LC-SI (3 µm; 75 mm × 3,0 mm; Supelco, Bellefonte, EUA), à temperatura ambiente (21 °C). Utilizou-se como eluente uma mistura de n-hexano e 1,4-dioxano (98:2), a um fluxo de 0,7 ml/minuto (Alves *et al.*, 2009).

Os compostos foram identificados com base nos seus espectros e tempos de retenção, comparativamente aos dos padrões. A sua quantificação foi efetuada pelo método do padrão interno, usando os cromatogramas obtidos com o detetor de fluorescência ($\lambda_{\text{excitação}} = 290 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{emissão}} = 330 \text{ nm}$). Os dados foram analisados no Software Borwin-PDA Controller (JMBS, França). Todas as análises foram efetuadas em duplicado e os resultados expressos em mg/100 g de gordura.

3.12. DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL DE HIDRATOS DE CARBONO

Os hidratos de carbono totais foram determinados indiretamente, por diferença com os restantes parâmetros do perfil nutricional das amostras, de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ total de hidratos de carbono} = 100\% - (\% \text{humidade} + \% \text{proteína} + \% \text{gordura} + \% \text{cinzas})$$

Os resultados foram expressos em g/100 g de amostra em peso seco.

3.13. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO EM MINERAIS

Os minerais são a principal fonte de nutrientes das plantas, e estão presentes no meio marinho de crescimento e desenvolvimento das macroalgas, por isso a sua análise é um ensaio relevante na matriz em estudo.

Todas as soluções foram preparadas usando material de laboratório de polipropileno, incluindo balões volumétricos (Kartell, Milão, Itália) e todo o material necessário para estas análises foi previamente descontaminado utilizando uma solução de ácido nítrico 10%. As soluções padrão foram preparadas a partir de material AccuTrace fornecido pela AccuStandart, para ICP-MS e padrões da Sigma para EAA, usando água ultrapura obtida com sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Billerica, EUA).

Os minerais determinados por diferentes metodologias foram Ca, Mg, P, Fe, I, Mn, Cu, Zn, Se, Cd, Hg, Pb e As.

3.13.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras foram demolhadas/lavadas com água ultrapura durante 20 minutos para retirar o excesso de NaCl que poderia ser um interferente nestas análises. A secagem foi feita lentamente em estufa a 50°C durante 16 horas, tendo sido posteriormente trituradas e homogeneizadas no moinho Grindomix GM 200 (Retsch, Haan, Alemanha).

3.13.2. DIGESTÃO ÁCIDA DAS AMOSTRAS

Seguindo a metodologia utilizada por Pinto *et al.* (2014) pesaram-se 0,3 g de amostra e de material de referência certificado, BRC 679 (couve branca) para vasos de PTFE (teflon), ao qual se juntaram 3,0 ml de ácido nítrico (HNO₃) 65% (m/m) e 1,0 ml de peróxido de hidrogénio (H₂O₂) 30% (v/v). O procedimento de digestão assistida deu-se em microondas de alto desempenho MLS 1200 (Milestone, Sorisole, Itália) equipado com um HPR-100/10 e carrossel de 10 vasos. A mistura foi submetida a um programa de aquecimento: 250 W durante 1 min, 0 W durante 2 min, 250 W durante 5 min, 400 W durante 5 min, e 600 W durante 5 min, até digestão total das amostras. Este processo tem por finalidade obter o teor total de minerais das macroalgas, realizado de acordo com USEPA (3051A:2007). Foram feitas duas repetições de cada digestão das amostras. Após a digestão, as soluções foram arrefecidas à temperatura ambiente e transferidas para balões volumétricos de 25 ml e completado o volume com água ultrapura.

3.13.3. ANÁLISE DO FÓSFORO

O teor de fósforo (P) das amostras foi determinado por um método espectrofotométrico adaptado da literatura (Strickland e Parsons, 1965), utilizando um Shimadzu, UV-1800 spectrophotometer, Japão. Foram preparadas uma solução padrão de fósforo de 1000 mg/L através de dihidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄), a qual foi utilizada para preparar os padrões da reta de calibração (0, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 mg/ml), e a solução de Murphy-Riley (100 ml de ácido sulfúrico 2,5 M, 30 ml de solução de heptamolibdato de amónio tetrahidratado 4%, 20 ml de solução de ácido ascórbico 5,28%, 10 ml de solução de tartarato de antimónio e potássio 0,29%, perfazendo até 200 ml com água desionizada). As amostras foram preparadas adicionando 0,5 ml de extrato digerido, 2 gotas de p-nitroferol 0,25% (indicador), 1-4 gotas de hidróxido de sódio (NaOH) 4 M, 2 gotas de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,25 M e 4 ml da solução Murphy-Riley para 25 ml de solução final. Aguardou-se 15 minutos para desenvolvimento de cor, seguindo-se a leitura das absorvências a 880 nm em triplicado. O resultado de fósforo nas amostras foi expresso em mg/g de amostra.

3.13.4. ANÁLISE DE MACROMINERAIS

A determinação do cálcio (Ca), magnésio (Mg) e ferro (Fe) foi realizada por espectroscopia de absorção atômica (EAA), com atomização em chama, num espectrofotômetro Perkin Elmer 3100 (Überlingen, Alemanha). Para a atomização utilizou-se uma chama de mistura de ar/acetileno como gases de combustão. Para as análises por EAA foram otimizados a proporção de gases e altura de queimador, para cada elemento. A absorvência registrada correspondeu à integração da intensidade dos sinais obtidos em três repetições (Pinto *et al.*, 2014). Para calibração foram preparados padrões de 1000 mg/l de Ca, Mg e Fe e diferentes diluições das soluções de amostra digeridas, 10×, 20×, 40×, 100× ou 200× de acordo com a concentração do mineral em estudo na amostra. Os resultados foram expressos em mg/g e µg/g de amostra.

3.13.5. ANÁLISE DE MICROMINERAIS E METAIS PESADOS

A análise dos restantes minerais foi realizada em espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) seguindo a metodologia utilizada por Pinto *et al.* (2014). Adicionaram-se a 3 ml de solução digerida, 6 ml de água ultrapura e 1 ml de PI (solução de lantânio 10%). As soluções foram analisadas por platina e paládio em ICP-MS, Elemental VG (Winsford, Reino Unido), PlasmaQuad 3 (analisador de massa) equipado com um nebulizador concêntrico de vidro (Meinhard Tipo A), câmara de impacto e cones de amostragem. Uma bomba peristáltica Minipuls 3 (Gilson, França) foi usada para introdução da amostra. A fonte de plasma foi uma corrente de argônio com 99,9999% de pureza. As análises em ICP-MS foram efetuadas nas seguintes condições experimentais: potência RF, 1350W; fluxo de argônio, 13 L/min; corrente auxiliar de argônio, 0,7 L/min; *dwell time*, 200 ms; fluxo do nebulizador, 0,8 L/min; modo de deteção, *pulse counting*. Os isótopos utilizados para quantificação foram ⁵³I, ⁵⁵Mn, ⁶⁵Cu, ⁶⁶Zn, ⁷⁵As, ⁸²Se, ¹¹¹Cd, ²⁰²Hg, ²⁰⁸Pb, e os resultados obtidos foram expressos em µg/g de amostra.

3.14. DETERMINAÇÃO DE CLOROFILAS E CAROTENOIDES

A pigmentação das algas é semelhante à das plantas terrestres. Nas macroalgas castanhas existem clorofilas e carotenoides, onde domina a fucoxantina, responsável pela coloração acastanhada; as vermelhas possuem como pigmentos fotossintéticos clorofilas, ficobilinas e carotenoides (β-caroteno, luteína e zeaxantina) (Pereira, 2009; Pangestuti e Kim, 2011).

Os pigmentos das amostras foram quantificados por espectrofotometria (Shimadzu - UV 1800 spectrophotometer, Japão). Aproximadamente, 1 g de amostra foi submetida a um processo de extração com solvente constituído por 20 ml de mistura de acetona:hexano (4:6). A solução foi homogeneizada em vortex e centrifugada (Heraeus Sepatech Labofuge Ae, Heraeus Instruments, Alemanha) a 5000 rpm, durante 5 minutos. O sobrenadante foi recolhido e efetuaram-se leituras das absorvências a diferentes comprimentos de onda (663, 645, 505 e 453 nm) de forma a quantificar os teores totais de clorofila e carotenoides através das equações abaixo representadas, segundo método adaptado de Nagata e Yamashita (1992). As leituras referentes a cada amostra e comprimento de onda foram feitas em triplicado e os resultados expressos em mg/100g de amostra.

$$\text{Clorofila } a \text{ (mg/100 ml)} = 0,999 A_{663} - 0,0989 A_{645}$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (mg/100 ml)} = -0,328 A_{663} + 1,77 A_{645}$$

$$\text{Licopeno (mg/100 ml)} = -0,0458 A_{663} + 0,204 A_{645} + 0,372 A_{505} - 0,0806 A_{453}$$

$$\beta - \text{caroteno (mg/100 ml)} = 0,216 A_{663} - 1,22 A_{645} - 0,304 A_{505} + 0,452 A_{453}$$

3.15. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

A avaliação dos compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante foi determinada em extratos hidroalcoólicos. Assim, utilizou-se como solvente uma solução de 50% água: 50% etanol, mantida à temperatura de 40 °C, durante um tempo de extração de 60 minutos. Outros estudos com diferentes matrizes demonstraram que estas condições são as mais eficientes, visando condições sustentáveis de obtenção de extratos, tal como descreve Costa *et al.* (2014).

Prepararam-se assim, diferentes extratos: nas algas castanhas a concentração do extrato foi de 3 g/50 ml, enquanto nas algas vermelhas foi de 0,5 g/50 ml. A extração foi efetuada em placa de aquecimento com agitação constante de 600 rpm (Variomag, Telemodul 40 CT, Alemanha) e os extratos obtidos foram filtrados e congelados a -25 °C, para posterior análise. Os extratos foram realizados em duplicado. A Figura 2 permite deduzir a diferente composição dos extratos obtidos, tendo em conta as tonalidades apresentadas, devido à pigmentação existente das amostras.



Figura 2. Extratos hidroalcoólicos 50:50 de amostras aleatórias.

3.16. DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os compostos fenólicos totais dos extratos aquosos foram determinados por um método espectrofotométrico, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu (RFC). A natureza química exata do RFC não é conhecida, mas é genericamente aceite como complexos de ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico. A química associada ao ensaio RFC é suportada na transferência de eletrões em meio alcalino de compostos fenólicos e outras espécies redutoras para o molibdénio, formando complexos azuis que podem ser monitorizados espectrofotometricamente a 750-765 nm (Magalhães *et al.*, 2008). Os compostos fenólicos reagem com o RFC apenas em condições alcalinas (MacDonald-Wicks *et al.*, 2006).

Segundo metodologia previamente descrita por Alves *et al.* (2010) colocou-se num tubo de ensaio 500 µL de extrato, branco ou padrão (solução de ácido gálgico 1000 ppm) aos quais se adicionaram 2,5 ml de RFC diluído em água desionizada (1:10) e 2,0 ml de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5%. Os extratos foram colocados em banho a 45 °C durante 15 minutos, ao abrigo da luz. Posteriormente, deixou-se em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. Foram efetuadas leituras das absorvências a 765 nm em leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GEN55, EUA). Os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálgico (EAG) em mg EAG/100 g de amostra.

3.17. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os compostos antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, quando presentes em pequenas concentrações em relação ao substrato oxidável, são capazes de retardar ou mesmo inibir substancialmente a oxidação do substrato (Niki, 2010).

Para a avaliação da atividade antioxidante foram realizados dois ensaios, segundo metodologias previamente descritas (Brand-Williams *et al.*, 1995; Benzie e Strain, 1996):

- determinação da capacidade de neutralização do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH•);

— avaliação do poder antioxidante por redução do ião férrico (método FRAP).

3.17.1. INIBIÇÃO DO DPPH•

O DPPH• é um radical estável utilizado para avaliar as capacidades redutoras de radicais livres de vários antioxidantes, através da perda de absorvência medida a 525 nm. Esta determinação foi efetuada de acordo com o método anteriormente descrito por Brand-Williams *et al.* (1995) ao qual se efetuaram algumas alterações.

A metodologia consistiu, assim, em adicionar a 20 µL de extrato, 280 µL de solução etanólica de DPPH• ($6,0 \times 10^{-5}$ mol/L) preparada na hora e efetuar leituras a 525 nm em leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GENS5, EUA). O decréscimo de DPPH• foi determinado de 2 em 2 minutos, até a reação estabilizar, o que demorou cerca de 30 minutos. Os resultados foram expressos em % de inibição.

3.17.2. FRAP

O método consiste na redução do complexo Fe(III)/ferricianeto $[\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a Fe(II), forma ferrosa, pelo composto antioxidante na solução. Assim, determinou-se o poder antioxidante por redução do ião férrico, segundo metodologia previamente descrita (Benzie e Strain, 1996), utilizando uma curva de calibração de sulfato ferroso.

Num tubo de ensaio, colocaram-se 90 µL de extrato, 270 µL de água destilada e 2,7 ml de reagente FRAP (750 ml de tampão acetato 0,3 M, 75 ml solução TPTZ 10 mM e 75 ml cloreto férrico 20 mM). Homogeneizou-se a solução e colocou-se em banho a 37 °C. Após 30 minutos efetuaram-se leituras a 595 nm em leitor de microplacas (BioTek Synergy HT, GENS5, EUA). Os resultados foram expressos em equivalentes de sulfato ferroso (ESF) em µM ESF/100 g de amostra.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foram analisadas 8 espécies de macroalgas que estão disponíveis no mercado português, das quais 5 espécies castanhas (*Phaeophyta*) e 3 espécies vermelhas (*Rhodophyta*) originárias da zona norte de Espanha (Galiza), do Japão e de França, num total de 13 amostras, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Espécies de macroalgas analisadas.

	Amostra	Espécie	Origem
Algas Castanhas	L.J. ^g	<i>Laminaria japonica</i>	Galiza
	L.J. ^j		Japão
	U.P. ^g	<i>Undaria pinnatifida</i>	Galiza
	U.P. ^j		Japão
	H.F. ^{j1}	<i>Hijikia fusiforme</i>	Japão
	H.F. ^{j2}		Japão
	Hm. ^g	<i>Himanthalia</i>	Galiza
	F.V. ^f	<i>Fucus vesiculosus</i>	França
Algas Vermelhas	P.T. ^g	<i>Porphyra tenera</i>	Galiza
	P.T. ^j		Japão
	E.A. ^j	<i>Eisenia arborea</i>	Japão
	E.B. ^j	<i>Eisenia bicyclis</i>	Japão
	P.P. ^g	<i>Palmaria palmata</i>	Galiza

g, alga oriunda de Espanha (Galiza); j, alga oriunda do Japão;
f, alga oriunda de França

4.1. ANÁLISE NUTRICIONAL

Sabe-se que o teor total de humidade das algas frescas ronda os 90%. Comercialmente as amostras são adquiridas desidratadas, pelo que 100 g de amostra desidratada equivalem a cerca de 800 g a 1 kg de algas frescas, segundo informação fornecida na rotulagem de algumas amostras.

Neste sentido, segundo os resultados obtidos e apresentados na Tabela 3, a humidade das amostras desidratadas varia entre os $6,80 \pm 0,67\%$ e $14,00 \pm 0,15\%$, sem diferença de valores entre algas castanhas e vermelhas. Observa-se que em amostras da mesma espécie com diferente origem se obtêm variações possivelmente relacionadas com o local de origem ou o tipo de secagem utilizada pelo produtor. As algas japonesas do mesmo género (*E. arborea* e *E. bicyclis*) de diferentes produtores são uma exceção e apresentam os valores de humidade mais semelhantes. No caso específico da *P. tenera* a diferença de humidade da originária do

Japão ($6,80 \pm 0,67\%$) e da Galiza ($12,78 \pm 0,68\%$) pode ser justificada pela morfologia da amostra, no primeiro caso em folha, no segundo em flocos.

Na restante análise nutricional os valores foram convertidos para peso seco de amostra, de modo a uniformizar todos os parâmetros calculados. Os resultados apresentam-se na Tabela 3.

Sabe-se que quanto maior o teor em cinzas menor o teor de matéria orgânica. Observam-se assim, valores em cinza entre $10,90 \pm 0,03 - 42,08 \pm 0,51$ g/100 g. Estes valores são bem mais elevados quando comparados com os vegetais tradicionais. Por exemplo, a alface tem 0,65 g/100 g, a couve galega 2,2 g/100 g, o espinafre 1,3 g/100 g, enquanto o grão de soja tem 5,0 g/100 g de amostra (INSA, 2010).

Observa-se que os valores de cinzas nas algas castanhas são mais elevados, ($19,62 \pm 0,15 - 42,08 \pm 0,51$ g/100 g), que nas algas vermelhas ($10,90 \pm 0,03 - 19,12 \pm 0,02$ g/100 g), estando concordante com os valores obtidos com os estudos de Holdt e Kraan (2011) e Kaehler e Kemish (1996).

O teor de cinzas também dá uma estimativa aproximada do teor mineral total presente na matriz em estudo (Maehre *et al.*, 2014). Como será analisado posteriormente, as algas são uma boa fonte de minerais, sendo as algas castanhas mais ricas que as vermelhas, de acordo com os teores de cinzas determinados.

A conservação de alimentos com sal, é um processo tradicional de preservação de alimentos desde a antiguidade. Este processo retarda o crescimento de microrganismos pela ausência de atividade da água no alimento.

Assim a determinação do sal, mostrou-se relevante neste tipo de matriz, não somente devido à sua utilização como fator de conservação natural, mas também porque está presente no ambiente marinho de crescimento e de desenvolvimento das algas.

A análise quantificou o teor de cloreto (Cl^-) e de cloreto de sódio (NaCl) das amostras (Tabela 3). Numa primeira análise destaca-se a grande diferença dos valores obtidos entre algas castanhas e vermelhas, sendo as vermelhas claramente mais pobres em sal. Nas algas vermelhas o teor de NaCl variou entre $0,04 \pm 0,00 - 0,24 \pm 0,01$ g/100 g, à exceção da *P. palmata* cujo teor determinado foi de $2,06 \pm 0,02$ g/100 g. Nas algas castanhas observa-se uma variação entre $0,41 \pm 0,02 - 10,38 \pm 0,55$ g/100 g de amostra, sendo o valor mais elevado relativo à *U. pinnatifida* da Galiza. Parece ainda possível verificar que, de uma maneira geral, as algas japonesas apresentam menor quantidade de sal/cloretos quando comparadas com as da zona norte de Espanha.

Tabela 3. Composição nutricional das algas analisadas.

	Amostras	Humidade (%)	Cinzas * (g/100 g)	Proteína * (g/100 g)	Lípidos * (g/100 g)	Hid. Carbono * (g/100 g)	Energia * (kcal/100 g)	Cl- * (g/100 g)	NaCl * (g/100 g)
Algas Castanhas	L.J. ^g	10,57 ± 0,40	34,67 ± 0,29	6,50 ± 0,04	0,52 ± 0,00	58,30 ± 0,24	264	4,03 ± 0,12	6,64 ± 0,20
	L.J. ^j	14,00 ± 0,15	27,88 ± 0,06	10,83 ± 0,05	0,93 ± 0,01	60,35 ± 0,10	293	2,02 ± 0,01	3,34 ± 0,01
	U.P. ^g	9,89 ± 0,83	42,08 ± 0,51	15,05 ± 0,04	0,94 ± 0,05	41,92 ± 0,51	236	6,30 ± 0,40	10,38 ± 0,55
	U.P. ^j	12,12 ± 0,26	34,62 ± 0,28	14,50 ± 0,06	0,56 ± 0,03	50,32 ± 0,19	264	3,83 ± 0,04	6,31 ± 0,06
	H.F. ^{j1}	12,96 ± 0,30	19,62 ± 0,15	9,13 ± 0,02	0,69 ± 0,05	70,56 ± 0,21	325	0,25 ± 0,01	0,41 ± 0,02
	H.F. ^{j2}	9,82 ± 0,29	19,93 ± 0,14	9,64 ± 0,06	0,34 ± 0,02	70,09 ± 0,18	322	0,30 ± 0,01	0,49 ± 0,01
	Hm. ^g	11,27 ± 0,35	36,66 ± 0,40	8,49 ± 0,05	0,41 ± 0,02	45,44 ± 0,37	255	3,27 ± 0,03	5,39 ± 0,06
	F.V. ^f	7,70 ± 0,01	29,32 ± 0,29	8,35 ± 0,05	2,09 ± 0,02	60,24 ± 0,36	293	1,83 ± 0,01	3,01 ± 0,02
Algas Vermelhas	P.T. ^g	12,78 ± 0,68	10,90 ± 0,03	34,28 ± 0,01	0,25 ± 0,01	54,58 ± 0,03	358	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,00
	P.T. ^j	6,80 ± 0,67	11,09 ± 0,22	35,76 ± 0,07	0,51 ± 0,01	52,65 ± 0,15	358	0,08 ± 0,00	0,14 ± 0,01
	E.A. ^j	9,18 ± 0,64	13,00 ± 0,08	10,49 ± 0,00	0,43 ± 0,00	76,08 ± 0,08	350	0,14 ± 0,01	0,24 ± 0,01
	E.B. ^j	7,98 ± 0,05	13,23 ± 0,02	13,18 ± 0,09	0,60 ± 0,02	72,99 ± 0,05	350	0,11 ± 0,01	0,18 ± 0,01
	P.P. ^g	10,78 ± 0,38	19,12 ± 0,02	19,84 ± 0,03	0,12 ± 0,00	60,92 ± 0,01	324	1,25 ± 0,01	2,06 ± 0,02

* Os valores são expressos em peso seco de amostra através da média ± DP (n=3).
A humidade é dada em % através da média ± DP (n=3).

As proteínas são constituintes de elevada importância dos alimentos. Desempenham um papel biológico de extrema importância, exercendo funções a nível estrutural, enzimático, energético, hormonal e de defesa (Ferreira, 2005). Há estudos que demonstram que as algas castanhas têm menor fração proteica (10% a 21%) que as algas vermelhas, cujo teor pode variar entre 35% e 44% em peso seco de amostra nas espécies *P. palmata* e *P. tenera* (Holdt e Kraan, 2011).

Efetivamente, o teor de proteína (Tabela 3) varia entre $6,50 \pm 0,04$ – $35,76 \pm 0,07$ g/100 g de amostra, verificando-se, em geral, grande diferença entre algas castanhas ($6,50 \pm 0,05$ – $15,05 \pm 0,04$ g/100 g) e vermelhas ($10,49 \pm 0,00$ – $35,76 \pm 0,07$ g/100 g). Observa-se alguma similaridade de resultados entre algas da mesma espécie, exceto no caso da *L. japonica*, em que a da Galiza apresenta um valor de quase metade de proteína quando comparada com a do Japão. A alga vermelha *P.tenera* apresenta o valor mais elevado de proteína com $34,28 \pm 0,01$ g/100 g e $35,76 \pm 0,07$ g/100 g, seguida da *P. palmata* com $19,84 \pm 0,03$ g/100 g, assim são as algas analisadas que mais se destacam no teor proteico. Estes valores são concordantes com estudos de Burtin (2003), no entanto ligeiramente mais baixos aos que Galland-Irmouli *et al.* (1991) descreveram. Salienta-se, novamente, a influência das condições ambientais do local de origem e a época de colheita como fatores determinantes da qualidade nutricional do alimento.

O teor de proteína em algumas espécies de algas é considerável, quando comparado com outros alimentos. Por exemplo, o conteúdo proteico da couve galega é de 2,4 g/100 g, do ovo 13 g/100 g, da sardinha 18,9 g/100 g, da carne de vaca 20,9 g/100 g e do grão de soja 32,8 g/100 g (INSA, 2010).

Desta forma, pode-se afirmar que o teor de proteína das algas marinhas é realmente elevado, pelo que a sua introdução na dieta alimentar parece ser uma boa fonte proteica, alternativa e promissora. No entanto, a qualidade proteica de uma matriz alimentar refere-se também à sua composição em aminoácidos, proporção e biodisponibilidade destes (Becker, 2007).

Os lípidos são a principal forma de armazenamento de energia, fornecendo 9 kcal/g. Asseguram, por exemplo, a formação da bicamada lipídica das membranas celulares, desempenhando também um papel no funcionamento de enzimas, hormonas e sinalizadores intracelulares, entre outras funções reconhecidas (Nelson e Cox, 2005).

Relativamente ao teor de lípidos, e de acordo com os trabalhos publicados na literatura científica, a quantidade de lípidos totais presente nas macroalgas é geralmente reduzida (Dawczynski *et al.*, 2007; Sánchez-Machado *et al.*, 2004a; Fleurence *et al.*, 1994). De facto, as amostras analisadas apresentaram teores de gordura abaixo de 1 g/100 g de amostra, com exceção da alga *F. vesiculosus* com $2,09 \pm 0,02$ g/100 g (Tabela 3).

Outros nutrientes dentro da fração lipídica (ácidos gordos e vitamina E) também foram avaliados, pelo que será efetuada, a seguir à análise macronutricional, uma discussão desses resultados.

Os hidratos de carbono são as biomoléculas mais abundantes de qualquer organismo vivo. Estão presentes na parede celular das algas, como componente estrutural, e no seu citoplasma como reserva de energia. Apresentam numerosas aplicações comerciais como, espessantes, emulsionantes e estabilizadores, devido à presença de carragenano, alginatos e agar (McHugh, 1987) nomeadamente em bebidas e alimentos. A concentração total de polissacarídeos, ou seja, o total de hidratos de carbono varia entre as espécies de algas, mas situa-se entre 35% a 76% de peso seco (Holdt e Kraan, 2011).

A quantidade de hidratos de carbono obtida é realmente elevada, variando de $41,92 \pm 0,51$ – $76,08 \pm 0,08$ g/100 g de amostra, enquadrando-se nos valores descritos na literatura. A maior parte destes polissacarídeos representa fibra dietética (Sánchez-Machado *et al.*, 2004b), pelo que a sua qualidade nutricional é elevada.

Após discussão de todos os nutrientes que podem fornecer energia, cabe agora discutir os valores energéticos das algas. Conforme já referido, as algas têm um baixo teor calórico (Gressler *et al.*, 2010), justificado pelos teores reduzidos de gordura. Pelos resultados da Tabela 3 as algas em avaliação fornecem entre 236 kcal/100 g e 358 kcal/100 g. Mais uma vez verificam-se diferenças entre algas castanhas (236 – 325 kcal/100 g) e vermelhas, fornecendo as vermelhas mais energia (324 – 358 kcal/100 g). No entanto, após hidratação, estas matrizes alimentares podem saciar, pela sua riqueza em fibra dietética, sem fornecimento de muita energia. Esta característica pode torná-las ingredientes interessantes em regimes de emagrecimento ou para redução do excesso de peso, sem o risco de deficiência proteica ou mineral.

Apesar das algas não constituírem uma fonte convencional de gordura (os valores quantificados de lípidos totais estão abaixo de 1 g/100 g de amostra), a sua pequena fração lipídica pode representar uma interessante mais-valia em algumas amostras de macroalgas. De acordo com a Tabela 4, na composição em ácidos gordos (AG) predominam os ácidos insaturados (MUFA, monoinsaturados e PUFA, polinsaturados), à exceção da *P. palmata* que tem mais de 74% de ácidos gordos saturados (SFA). Os AG insaturados variam entre 50% a 67% do total de FAME, sendo similar o teor destes componentes nas diferentes algas estudadas.

A composição total em FAME está descrita na Tabela 4, bem como o somatório das diferentes classes de ácidos gordos (SFA, MUFA, PUFA) e a relação de ómega 3 e ómega 6.

O ácido palmítico (C16:0) é o ácido gordo saturado (SFA) mais abundante. A presença de C16:0 é mais elevada nas algas vermelhas variando de $18,43 \pm 0,25\%$ a $53,65 \pm 0,34\%$ contrastando com $14,05 \pm 0,02\%$ a $31,93 \pm 0,06\%$ nas algas castanhas. As algas analisadas contêm ainda percentagens mais baixas de ácido merístico (C14:0), ácido esteárico (C18:0) e ácido heneicosanóico (C21:0). Os SFA variaram entre $29,42 \pm 0,18\%$ a $47,19 \pm 0,08\%$ dos FAME totais, com exceção da *P. palmata*, que apresenta o valor mais elevado de SFA com $74,38 \pm 0,25\%$. Com este valor é assim a única alga em que os SFA predominam maioritariamente face aos ácidos gordos insaturados, tornando-a a menos interessante neste contexto.

Relativamente aos ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), destaca-se o ácido oleico (C18:1 *n*-9) como o AG predominante, o que está de acordo com o estudo realizado por Sánchez-Machado *et al.* (2004a). A alga *F. vesiculosus* e *L. japonica* do Japão apresentam o maior teor de ácido oleico na sua composição ($34,14 \pm 0,01\%$ e $24,90 \pm 0,04\%$ respetivamente). As restantes macroalgas apresentam valores entre $5,32 \pm 0,03\%$ e $18,08 \pm 0,10\%$ deste AG. Outros estudos revelaram percentagens semelhantes de ácido oleico na *P. tenera*, *H. fusiforme* e *U. pinnatifida*, no entanto, valores inferiores para a *L. japonica* (Dawczynski *et al.*, 2007; Fleurence *et al.*, 1994). As amostras apresentam também ácido eicosenóico (C20:1 *n*-9) entre $0,81 \pm 0,05\%$ e $9,32 \pm 0,01\%$, destacando-se do grupo a *U. pinnatifida* da Galiza com $12,66 \pm 0,01\%$. Os teores de ácido palmitoleico (C16:1 *n*-7) variaram entre $1,13 \pm 0,01\%$ e $6,06 \pm 0,08\%$, não tendo sido detetado na *E. bicyclis*. Porém a *E. arborea* apresentou o teor mais elevado ($6,06 \pm 0,08\%$) deste AG. Os teores de MUFA nas amostras variaram entre $14,86 \pm 0,03\%$ e $39,85 \pm 0,00\%$ dos FAME totais.

Estes vegetais marinhos representam uma fonte importante de PUFA, nomeadamente de AG ómega 3 e ómega 6, que são fundamentais na formação de estruturas lipídicas e de elementos na membrana celular. Estas duas classes de PUFA têm funções diferentes e por isso a sua relação é importante para o normal crescimento e desenvolvimento. Assim estes AG são benéficos na prevenção de doenças cardiovasculares e crónicas, como a diabetes e a hipertensão (Calder e Grimble, 2002).

Relativamente ao teor de ácidos gordos polinsaturados (PUFA) observaram-se variações entre espécies e local de origem da macroalga, situando-se entre $27,98 \pm 0,04\%$ e $51,57 \pm 0,35\%$ dos FAME totais, com exceção da *P. palmata* que contém apenas $5,70 \pm 0,32\%$ de PUFA. A *P. tenera* do Japão apresenta $51,57 \pm 0,35\%$ e a da Galiza $35,32 \pm 0,05\%$. Outra diferença é notória na espécie *L. japonica* do Japão com $29,59 \pm 0,03\%$ de PUFA e a da Galiza com $45,98 \pm 0,39\%$.

Tabela 4. Composição em ácidos gordos (%) das algas analisadas.

Ácidos Gordos	L.J. ^g	L.J. ^j	U.P. ^g	U.P. ^j	H.F. ^{j1}	H.F. ^{j2}	Hm. ^g	F.V. ^f	P.T. ^g	P.T. ^j	E.A. ^j	E.B. ^j	P.P. ^j
14:0	4,17 ± 0,04	7,70 ± 0,03	2,72 ± 0,00	4,72 ± 0,01	4,81 ± 0,02	4,47 ± 0,02	8,77 ± 0,15	10,39 ± 0,11	1,17 ± 0,18	0,52 ± 0,03	4,94 ± 0,05	4,93 ± 0,04	13,72 ± 0,04
15:0	0,36 ± 0,01	0,33 ± 0,01	n.d.	0,30 ± 0,02	0,54 ± 0,01	0,40 ± 0,01	n.d.	0,37 ± 0,00	n.d.	n.d.	0,36 ± 0,00	0,35 ± 0,01	1,28 ± 0,05
16:0	16,53 ± 0,00	21,82 ± 0,11	14,05 ± 0,02	29,18 ± 0,08	31,93 ± 0,06	27,38 ± 0,02	26,58 ± 0,27	15,19 ± 0,06	36,51 ± 0,18	18,43 ± 0,25	27,65 ± 0,22	28,14 ± 0,21	53,65 ± 0,34
17:0	0,84 ± 0,04	0,40 ± 0,00	1,17 ± 0,01	1,14 ± 0,01	0,50 ± 0,02	0,43 ± 0,01	1,26 ± 0,00	0,38 ± 0,00	n.d.	0,50 ± 0,04	0,36 ± 0,04	n.d.	0,77 ± 0,03
18:0	1,13 ± 0,01	2,47 ± 0,01	1,39 ± 0,00	2,26 ± 0,01	1,20 ± 0,00	1,15 ± 0,01	2,28 ± 0,00	0,99 ± 0,00	4,95 ± 0,02	5,55 ± 0,08	3,46 ± 0,01	2,82 ± 0,01	4,96 ± 0,03
21:0	5,90 ± 0,03	4,09 ± 0,01	14,15 ± 0,02	8,58 ± 0,01	2,44 ± 0,03	2,04 ± 0,01	1,62 ± 0,01	1,53 ± 0,01	n.d.	n.d.	3,33 ± 0,06	3,19 ± 0,03	n.d.
23:0	0,88 ± 0,02	0,28 ± 0,00	0,48 ± 0,00	0,35 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,56 ± 0,02	0,28 ± 0,00	n.d.	1,44 ± 0,01	0,58 ± 0,02	0,63 ± 0,01	n.d.
Σ SFA	30,79 ± 0,08	47,19 ± 0,01	35,55 ± 0,08	47,19 ± 0,08	42,43 ± 0,06	37,22 ± 0,00	42,41 ± 0,42	29,42 ± 0,18	43,68 ± 0,1	27,51 ± 0,31	40,69 ± 0,15	40,35 ± 0,27	74,38 ± 0,25
15:1	1,44 ± 0,01	0,45 ± 0,00	2,35 ± 0,01	0,88 ± 0,00	0,76 ± 0,02	0,64 ± 0,02	1,52 ± 0,02	0,47 ± 0,00	1,31 ± 0,02	1,37 ± 0,04	0,70 ± 0,02	0,63 ± 0,00	0,90 ± 0,05
16:1 <i>n</i> -7	3,96 ± 0,01	2,08 ± 0,01	1,13 ± 0,01	2,42 ± 0,01	5,45 ± 0,06	4,63 ± 0,08	1,87 ± 0,03	1,52 ± 0,00	4,03 ± 0,14	1,77 ± 0,05	6,06 ± 0,08	n.d.	3,68 ± 0,07
18:1 <i>n</i> -9	9,09 ± 0,02	24,90 ± 0,04	6,82 ± 0,01	11,96 ± 0,06	9,94 ± 0,02	11,14 ± 0,02	13,28 ± 0,08	34,14 ± 0,01	11,33 ± 0,09	7,12 ± 0,10	18,08 ± 0,10	17,79 ± 0,15	5,32 ± 0,03
18:1 <i>n</i> -7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,32 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	1,13 ± 0,08	0,83 ± 0,02	n.d.	0,32 ± 0,01	3,93 ± 0,02
20:1 <i>n</i> -9	2,64 ± 0,04	2,42 ± 0,01	12,66 ± 0,01	5,96 ± 0,02	9,32 ± 0,01	8,23 ± 0,00	5,07 ± 0,03	3,40 ± 0,01	3,04 ± 0,03	3,13 ± 0,07	3,25 ± 0,01	2,81 ± 0,02	0,81 ± 0,05
Σ MUFA	17,79 ± 0,03	29,86 ± 0,06	32,71 ± 0,00	21,52 ± 0,10	25,79 ± 0,02	24,63 ± 0,13	21,74 ± 0,13	39,85 ± 0,00	20,83 ± 0,36	14,86 ± 0,03	28,10 ± 0,20	27,91 ± 0,22	14,65 ± 0,22
18:2 <i>n</i> -6	8,14 ± 0,03	8,88 ± 0,02	8,94 ± 0,02	7,81 ± 0,04	4,52 ± 0,02	5,34 ± 0,01	8,02 ± 0,09	11,24 ± 0,00	3,38 ± 0,06	4,04 ± 0,05	7,27 ± 0,07	6,18 ± 0,04	1,20 ± 0,02
18:3 <i>n</i> -6	1,27 ± 0,03	3,87 ± 0,01	2,15 ± 0,00	1,88 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,82 ± 0,04	1,16 ± 0,43	0,80 ± 0,01	n.d.	0,94 ± 0,02	1,87 ± 0,01	3,21 ± 0,04	n.d.
20:3 <i>n</i> -3	0,49 ± 0,01	0,69 ± 0,00	0,70 ± 0,00	1,09 ± 0,01	1,53 ± 0,00	1,88 ± 0,03	2,54 ± 0,00	1,00 ± 0,00	3,11 ± 0,11	4,24 ± 0,03	0,89 ± 0,02	0,90 ± 0,01	1,12 ± 0,06
20:3 <i>n</i> -6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,54 ± 0,02	3,16 ± 0,01	n.d.	0,34 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
20:4 <i>n</i> -6	26,02 ± 0,21	10,75 ± 0,01	15,83 ± 0,02	12,38 ± 0,06	12,50 ± 0,03	17,83 ± 0,01	15,81 ± 0,08	10,52 ± 0,01	9,90 ± 0,10	5,45 ± 0,05	15,06 ± 0,12	15,44 ± 0,14	1,46 ± 0,03
20:5 <i>n</i> -3	10,07 ± 0,11	4,86 ± 0,01	7,18 ± 0,01	5,11 ± 0,03	4,01 ± 0,00	4,90 ± 0,02	4,19 ± 0,09	3,59 ± 0,00	18,44 ± 0,02	35,61 ± 0,31	3,47 ± 0,05	3,76 ± 0,03	1,37 ± 0,15
Σ PUFA	45,98 ± 0,39	29,59 ± 0,03	34,38 ± 0,04	28,67 ± 0,15	28,76 ± 0,06	35,66 ± 0,04	31,71 ± 0,50	27,98 ± 0,04	35,32 ± 0,05	51,57 ± 0,35	28,56 ± 0,15	29,49 ± 0,26	5,70 ± 0,32
<i>n</i> -3	10,55 ± 0,12	5,81 ± 0,00	7,88 ± 0,00	6,40 ± 0,05	7,19 ± 0,03	8,14 ± 0,01	6,73 ± 0,09	4,59 ± 0,00	21,55 ± 0,09	39,85 ± 0,35	4,37 ± 0,03	4,66 ± 0,03	3,05 ± 0,32
<i>n</i> -6	35,43 ± 0,27	23,78 ± 0,03	26,92 ± 0,04	22,27 ± 0,11	21,56 ± 0,03	27,52 ± 0,03	24,98 ± 0,59	23,39 ± 0,04	13,77 ± 0,04	11,72 ± 0,01	24,20 ± 0,19	24,83 ± 0,23	2,65 ± 0,01
<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6	0,30 ± 0,00	0,24 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,33 ± 0,00	0,30 ± 0,00	0,27 ± 0,01	0,20 ± 0,00	1,57 ± 0,01	3,40 ± 0,03	0,18 ± 0,00	0,19 ± 0,00	1,15 ± 0,13
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	3,36 ± 0,01	4,10 ± 0,00	3,42 ± 0,01	3,48 ± 0,01	3,00 ± 0,01	3,38 ± 0,00	3,71 ± 0,14	5,10 ± 0,01	0,64 ± 0,00	0,29 ± 0,00	5,54 ± 0,08	5,53 ± 0,01	0,88 ± 0,10
n.i.	5,43 ± 0,28	3,11 ± 0,27	5,94 ± 0,12	2,62 ± 0,32	3,02 ± 0,02	2,49 ± 0,17	4,14 ± 1,04	2,75 ± 0,15	0,17 ± 0,24	6,07 ± 0,69	2,65 ± 0,51	2,26 ± 0,75	5,27 ± 0,15

Os valores são expressos através da média ± DP da % total de FAME detetados.

SFA, ácidos gordos saturados; MUFA, ácidos gordos monoinsaturados; PUFA, ácidos gordos polinsaturados.

n.d., não detetado; n.i., não identificado

Pode-se observar que o ácido araquidónico (ARA, C20:4 *n*-6) e o ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5, *n*-3) são os PUFA predominantes nas amostras, valores concordantes com os estudos de Sánchez-Machado *et al.* (2004a), com realce para os 36% de EPA presentes na *P. tenera* japonesa, o valor mais elevado determinado. Quanto ao teor de ômega 3 observaram-se valores muito díspares nas algas vermelhas ($3,05 \pm 0,32\%$ a $39,85 \pm 0,35\%$), enquanto as castanhas variaram entre $4,59 \pm 0,00\%$ a $10,55 \pm 0,12\%$. A alga *P. tenera* japonesa merece destaque no teor de ômega 3 cerca de 40%, praticamente o dobro do determinado na alga da Galiza cerca de 22%.

Os efeitos benéficos dos PUFA dependem assim da abundância de ômega 3 face ao ômega 6. No entanto, a razão ômega 6/ômega 3 (*n*-6/*n*-3) das amostras é, maioritariamente mais elevada. Esta varia entre 0,3 e 5,5 estando ainda assim de acordo com as recomendações da Sociedade Europeia de Nutrição, que recomenda que esta relação não ultrapasse os 5. Atualmente, o tipo de alimentação praticada nos países europeus apresenta uma relação de 15 a 17. Estes valores realçam a necessidade da inclusão de alimentos ricos em ômega 3 na dieta dos países ocidentais (Simopoulos, 2002).

No entanto, o perfil de ácidos gordos da maioria das espécies marinhas é caracterizado por um elevado teor em PUFA ômega 6 e menor teor em PUFA ômega 3, consequentemente a razão *n*-3/*n*-6 é também baixa, com exceção da razão obtida na *P. tenera*, bastante superior à razão *n*-6/*n*-3.

No Anexo 2 podem ser observados dois exemplos de cromatogramas referentes à análise dos ácidos gordos de duas amostras de origem japonesa. Apresenta-se assim, o cromatograma da *L. japonica*, uma das algas castanhas com menor percentagem de SFA e da *P. tenera*, a macroalga com maior percentagem de EPA na sua composição.

Outro componente com interesse para a saúde do consumidor e importante na preservação do produto é a vitamina E. Esta é uma vitamina lipossolúvel constituída por um grupo de 8 vitâmeros, estruturalmente relacionados: α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, δ -tocoferol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol e δ -tocotrienol. A vitamina E desempenha um papel fundamental na proteção do organismo contra os efeitos prejudiciais de espécies reativas de oxigénio (ROS), formadas metabolicamente ou encontradas no ambiente. Os danos oxidativos induzidos nas células e nos tecidos têm sido relacionados com várias doenças. No entanto, podem ser inibidos pela ação antioxidante desta vitamina, juntamente com a vitamina C e os carotenoides. Além disso, protegem os PUFA da peroxidação, mantendo a integridade das membranas celulares. O α -tocoferol é o mais abundante antioxidante lipossolúvel nos tecidos e plasma, contendo maior atividade biológica que os restantes (Yoshida *et al.*, 2003).

Apenas as plantas têm a capacidade de biossintetizar a vitamina E. Uma vez que são compostos lipofílicos, surgem em concentrações elevadas em óleos vegetais edíveis, estando o seu padrão de distribuição relacionado com o tipo de óleo em que se encontram. Outros alimentos descritos como fontes de vitamina E são os frutos secos (avelã), cereais, hortícolas verdes, frutos e café (Alves *et al.*, 2009).

Os resultados do teor em vitamina E são apresentados na Tabela 5 e estão expressos em mg/100 g de gordura.

Verifica-se que nas algas vermelhas apenas uma espécie, a *P. palmata*, não contém todos os vitâmeros. Pelo contrário, nas algas castanhas apenas a *Himanthalia* contém os 8 vitâmeros. Os valores totais de vitamina E variaram entre 16,7 – 106,7 mg/100 g nas algas castanhas sendo exceção a *Himanthalia* com 787,5 mg/100 g de gordura, a espécie mais rica em vitamina E. Nas algas vermelhas os resultados obtidos variaram entre 129,8 – 356,3 mg/100 g, teores mais elevados que nas algas castanhas, excluindo a *P. palmata* cujo valor (35,6 mg/100 g) é bastante inferior aos da sua classe, assemelhando-se às macroalgas castanhas.

O vitâmero mais abundante é o α -tocoferol com valores entre $7,4 \pm 0,1$ – $241,4 \pm 4,6$ mg/100 g, com exceção da *P. palmata* com $0,8 \pm 0,1$ mg/100 g. A *Himanthalia* apresenta também o valor mais elevado de α -tocoferol de todas as amostras analisadas ($708,9 \pm 7,2$ mg/100 g) representado apenas este 90% do teor total em vitamina E. O valor de α -tocoferol determinado é próximo do obtido em óleos de sementes oleaginosas. Destaca-se também o γ -tocotrienol, com valores superiores aos restantes vitâmeros, atingindo o máximo de $86,6 \pm 0,5$ mg/100 g de gordura. Salvo algumas exceções os valores obtidos dos restantes vitâmeros foram inferiores a 10 mg/100 g de gordura. Destaque para o β -tocotrienol, uma vez que não foi detetado nas algas castanhas exceto na *Himanthalia* ($1,1 \pm 0,1$ mg/100 g) e foi detetado com valores entre $3,9 \pm 1,3$ – $56,2 \pm 0,2$ mg/100 g nas algas vermelhas exceto na *P. palmata*. O β -tocotrienol poderá, eventualmente, ser considerado um marcador das macroalgas vermelhas, no entanto é necessário aprofundar os estudos nesta área com um maior número de amostras avaliadas.

No Anexo 3 podem ser observados dois exemplos de cromatogramas referentes à quantificação do perfil em vitamina E da espécie *Himanthalia* e *E. bicyclis*.

Com o tipo de análise realizada aos dados não foi possível correlacionar os valores do perfil lipídico. No entanto, pode-se observar que a *P. palmata* é a espécie mais pobre em lípidos, 0,12 g/100 g de amostra e, consequentemente, a mais pobre em AG insaturados (cerca de 20%) e tem apenas um teor total de vitamina E de 35,6 mg/100 g de gordura. Contrariamente, a *P. tenera*, do Japão, apresenta um valor intermédio de gordura (0,51 g/100g), um teor elevado de AG insaturados (65,5%) e o segundo melhor teor de vitamina E (356,3 mg/100 g de gordura).

Tabela 5. Composição dos diferentes vitâmeros de vitamina E nas algas analisadas.

Amostras	α -tocoferol	α -tocotrienol	β -tocoferol	γ -tocoferol	β -tocotrienol	γ -tocotrienol	δ -tocoferol	δ -tocotrienol	Total Vit. E	
	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	(mg/100 g)	
Algas Castanhas	L.J. ^g	74,9 \pm 0,1	1,8 \pm 0,0	3,1 \pm 0,1	2,7 \pm 0,2	n.d.	15,4 \pm 0,0	6,5 \pm 0,3	2,3 \pm 0,1	106,7
	L.J. ^j	50,9 \pm 0,4	2,0 \pm 0,0	3,0 \pm 0,2	1,3 \pm 0,1	n.d.	23,7 \pm 0,2	n.d.	2,3 \pm 0,1	83,2
	U.P. ^g	72,4 \pm 0,4	0,8 \pm 0,0	1,2 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	n.d.	0,01 \pm 0,0	6,0 \pm 0,9	6,9 \pm 0,5	87,9
	U.P. ^j	14,1 \pm 0,2	2,1 \pm 0,0	2,8 \pm 0,0	2,4 \pm 0,0	n.d.	14,0 \pm 0,1	n.d.	3,6 \pm 0,4	39,1
	H.F. ^{j1}	48,0 \pm 0,7	2,6 \pm 0,2	3,9 \pm 0,1	1,4 \pm 0,0	n.d.	29,9 \pm 0,2	1,1 \pm 0,1	3,3 \pm 0,0	90,2
	H.F. ^{j2}	12,1 \pm 0,2	2,2 \pm 0,0	2,1 \pm 0,1	4,4 \pm 0,1	n.d.	n.d.	3,4 \pm 0,0	2,2 \pm 0,0	26,2
	Hm. ^g	708,9 \pm 7,2	2,6 \pm 0,0	4,6 \pm 0,2	26,5 \pm 0,2	1,1 \pm 0,1	17,5 \pm 0,3	22,1 \pm 0,5	4,3 \pm 0,1	787,5
	F.V. ^f	7,4 \pm 0,1	0,3 \pm 0,0	3,8 \pm 0,0	2,5 \pm 0,0	n.d.	0,4 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	2,2 \pm 0,0	16,7
Algas Vermelhas	P.T. ^g	20,2 \pm 0,8	11,2 \pm 0,1	4,8 \pm 0,2	3,4 \pm 0,0	56,2 \pm 0,2	17,7 \pm 0,7	8,6 \pm 0,1	7,7 \pm 0,1	129,8
	P.T. ^j	241,4 \pm 4,6	8,2 \pm 0,2	2,2 \pm 0,0	1,3 \pm 0,0	3,9 \pm 1,3	86,6 \pm 0,5	4,4 \pm 0,0	8,3 \pm 1,9	356,3
	E.A. ^j	142,5 \pm 0,5	3,3 \pm 0,1	2,4 \pm 0,2	1,3 \pm 0,1	9,5 \pm 2,3	20,1 \pm 6,6	3,5 \pm 0,0	4,4 \pm 0,2	187,1
	E.B. ^j	159,0 \pm 1,2	4,9 \pm 0,1	3,1 \pm 0,9	2,8 \pm 0,8	20,8 \pm 4,3	54,3 \pm 8,6	3,8 \pm 0,1	6,6 \pm 0,2	255,3
	P.P. ^g	0,8 \pm 0,1	5,4 \pm 0,1	8,7 \pm 0,0	5,2 \pm 0,2	n.d.	n.d.	7,2 \pm 0,5	8,3 \pm 0,1	35,6

Os valores são expressos em mg/100 g de gordura através da média \pm DP (n=3).
n.d., não detetado.

Os minerais são a principal fonte de nutrientes das plantas e estão presentes em todo o ambiente. As carências em minerais estão associadas a uma alimentação pobre (White e Broadley, 2008). As algas são vulgarmente conhecidas como uma fonte rica em minerais, devido ao seu habitat marinho, e à diversidade de minerais que absorvem (MacArtain *et al.*, 2007). A introdução de algas na dieta alimentar, como fonte de minerais, poderá colmatar este défice além de providenciar benefícios diretos na saúde humana.

A composição mineral das macroalgas é variável devido a fatores endógenos e exógenos. Esta composição difere entre classes de macroalgas e inclusive dentro da mesma espécie, devido às condições na origem. As algas são especialmente ricas em alguns minerais essenciais, tais como ferro e iodo, que estão presentes em elevadas quantidades (Mišurcová *et al.*, 2014).

A análise mineral das macroalgas apresenta-se na Tabela 6.

Podem-se observar valores elevados dos macrominerais cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P).

Nas algas castanhas os valores de Ca variaram entre $13,3 \pm 0,0$ – $22,8 \pm 0,3$ mg/g de amostra, correspondendo o valor inferior à *U. pinnatifida* japonesa, e o valor superior à *F. vesiculosus*. Nas algas vermelhas os valores são mais baixos, variando de $1,4 \pm 0,0$ mg/g na *P. palmata* até $15,9 \pm 0,3$ mg/g na *E. bicyclis*.

De acordo com a dieta alimentar do indivíduo e com o avançar da idade, por vezes, recomenda-se a toma de suplementos enriquecidos em cálcio. Uma alternativa à toma de suplementos é a ingestão de alimentos com maior teor em cálcio. As macroalgas apresentam teores mais elevados em Ca comparativamente com outros alimentos. Por exemplo, a alface tem 0,7 mg/g, a couve galega tem 2,9 mg/g, já o leite meio gordo tem 112 mg/100 g (INSA, 2010).

Para o Mg os resultados para ambas as classes de macroalgas são inferiores aos do Ca, sendo nas castanhas o valor mínimo ($5,3 \pm 0,1$ mg/g) determinado na *L. japonica* e o valor máximo ($10,5 \pm 0,2$ mg/g) para a *U. pinnatifida* do Japão. Nas vermelhas os valores são mais baixos variando de $1,0 \pm 0,0$ – $6,4 \pm 0,0$ mg/g, sendo a *E. arborea* a que apresenta o valor mais elevado em Mg.

Relativamente ao P, as algas vermelhas apresentam valores superiores ($8,8 \pm 0,1$ – $65,0 \pm 5,9$ mg/g) quando comparadas com as algas castanhas ($5,2 \pm 0,2$ – $38,4 \pm 1,4$ mg/g). A espécie que mais se destaca no teor de fósforo é a *P. palmata* com 65,0 mg/g.

Tabela 6. Composição em minerais essenciais das algas analisadas.

Amostras	Macrominerais			Microminerais						
	Ca (mg/g)	Mg (mg/g)	P (mg/g)	Fe (µg/g)	I (µg/g)	Mn (µg/g)	Cu (µg/g)	Zn (µg/g)	Se (µg/g)	
Algas Castanhas	L.J. ^g	16,4 ± 0,1	5,3 ± 0,1	13,8 ± 0,3	40,2 ± 4,5	84,6 ± 2,0	12,8 ± 0,3	16,6 ± 0,6	94,5 ± 5,7	57,5 ± 3,0
	L.J. ^j	16,6 ± 0,1	8,8 ± 0,2	9,9 ± 0,1	35,3 ± 7,1	17,1 ± 0,0	13,5 ± 0,1	10,7 ± 0,0	57,2 ± 0,1	14,2 ± 0,3
	U.P. ^g	15,1 ± 0,4	8,4 ± 0,1	31,2 ± 0,6	90,2 ± 14,5	19,7 ± 0,1	30,2 ± 0,3	13,2 ± 0,2	147,9 ± 0,8	18,0 ± 0,1
	U.P. ^j	13,3 ± 0,0	10,5 ± 0,2	38,4 ± 1,4	34,1 ± 4,4	10,2 ± 0,2	19,9 ± 0,0	13,9 ± 0,3	68,5 ± 2,0	21,9 ± 0,2
	H.F. ^{j1}	16,8 ± 0,1	7,0 ± 0,0	5,5 ± 0,2	122,5 ± 5,6	29,0 ± 0,1	24,7 ± 0,1	13,4 ± 0,1	39,5 ± 0,1	22,5 ± 0,3
	H.F. ^{j2}	18,8 ± 0,4	5,8 ± 0,0	5,2 ± 0,2	267,0 ± 4,5	19,4 ± 0,0	43,2 ± 0,6	11,3 ± 0,2	32,1 ± 0,5	15,5 ± 1,2
	Hm. ^g	19,0 ± 0,6	6,4 ± 0,0	7,5 ± 0,2	61,1 ± 6,1	18,8 ± 0,7	18,2 ± 0,0	20,3 ± 0,1	84,3 ± 0,3	17,8 ± 0,4
	F.V. ^f	22,8 ± 0,3	6,2 ± 0,1	6,8 ± 0,2	477,6 ± 10,4	17,4 ± 0,1	173,9 ± 6,9	11,5 ± 0,2	73,4 ± 3,0	67,5 ± 2,3
Algas Vermelhas	P.T. ^g	3,0 ± 0,0	3,2 ± 0,0	21,8 ± 0,7	66,3 ± 4,1	4,5 ± 0,0	145,1 ± 0,4	32,6 ± 0,2	136,0 ± 1,5	9,2 ± 0,5
	P.T. ^j	1,6 ± 0,0	2,6 ± 0,1	65,0 ± 5,9	137,6 ± 7,6	1,6 ± 0,0	235,3 ± 1,2	24,5 ± 0,6	86,5 ± 0,9	3,7 ± 0,5
	E.A. ^j	11,8 ± 0,2	6,4 ± 0,0	10,2 ± 0,1	86,2 ± 11,2	8,6 ± 0,0	186,8 ± 0,1	17,9 ± 0,2	87,6 ± 0,1	13,8 ± 0,2
	E.B. ^j	15,9 ± 0,3	6,1 ± 0,0	8,8 ± 0,1	120,1 ± 4,0	15,2 ± 0,0	16,1 ± 0,1	21,2 ± 0,0	114,2 ± 0,9	20,5 ± 0,6
	P.P. ^g	1,4 ± 0,0	1,0 ± 0,0	33,1 ± 0,3	19,7 ± 2,0	11,2 ± 0,1	28,7 ± 0,0	16,1 ± 0,0	86,2 ± 0,1	29,6 ± 0,4

Os valores são expressos através da média ± DP (n=3).

Outros vegetais apresentam valores inferiores, sendo o caso da alface com 0,22 mg/g de Mg e 0,46 mg/g para o P; a couve galega com 0,18 mg/g para o Mg e 0,40 mg/g para o P e o grão de soja com 2,54 mg/g para o Mg e 6,67 mg/g para o P (INSA, 2010).

O ferro (Fe) é importante na formação da hemoglobina e mioglobina, que transportam o oxigênio na corrente sanguínea. Para além disto, faz igualmente parte de inúmeras proteínas e enzimas do organismo. Reservas de ferro diminuídas são uma característica comum das dietas vegetarianas (Herrmann e Geisel, 2002).

Na determinação do Fe observaram-se teores mais elevados nas macroalgas castanhas ($34,1 \pm 4,4 - 267,0 \pm 4,5 \mu\text{g/g}$) com exceção da *F. vesiculosus* que apresentou teores de $477,6 \pm 10,4 \mu\text{g/g}$, sendo o valor mais alto determinado. O teor nas algas vermelhas variou entre $19,7 \pm 2,0 - 137,6 \pm 7,6 \mu\text{g/g}$. As algas apresentam teores em Fe bastante elevados quando comparados com outros vegetais como a alface, a couve galega e o grão de soja, que têm respetivamente 15, 10 e 80 $\mu\text{g/g}$ para o Fe (INSA, 2010).

O zinco (Zn), por sua vez, assume um papel importante no crescimento celular, na cicatrização de feridas, bem como no bom funcionamento dos sistemas nervoso e imunológico. Os alimentos de origem animal são fontes de excelência de Zn. Porém, existem igualmente fontes de Zn de origem vegetal, nomeadamente, leguminosas, massas de grãos integrais, gérmen de trigo, cereais enriquecidos e nozes (Freake, 2005).

As algas apresentam grande quantidade em Zn, não tendo sido observado diferenças entre algas castanhas e vermelhas. O teor em Zn apresenta uma grande variação entre $32,1 \pm 0,5 - 147,9 \pm 0,8 \mu\text{g/g}$. A alface, a couve galega e o grão de soja apresentam 4,0, 5,0 e 38 $\mu\text{g/g}$ para o Zn, respetivamente, valores muito inferiores aos determinados nas algas (INSA, 2010).

O iodo (I) é um mineral importante na regulação do organismo, utilizado na síntese de hormonas da tiróide, glândula mamária e desenvolvimento neurológico feto-infantil (Seaweed Health Foundation, 2012). As algas são descritas como uma fonte natural e segura de iodo (Garrow *et al.*, 1997).

A concentração em iodo atingiu valores mais elevados nas algas castanhas variando entre $10,2 \pm 0,2 - 29,0 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$, destacando-se do grupo a *L. japonica* da Galiza com $84,6 \pm 2,0 \mu\text{g/g}$. A alga vermelha *P. tenera* do Japão apresentou o valor mais baixo ($1,6 \pm 0,0 \mu\text{g/g}$).

Os resultados do selénio são mais elevados nas algas castanhas situando-se entre $14,2 \pm 0,3 - 67,5 \pm 2,3 \mu\text{g/g}$, valor superior da *F. vesiculosus*. Nas algas vermelhas variaram entre $3,7 \pm 0,5$ e $29,6 \pm 0,4 \mu\text{g/g}$.

Podem ainda ser observados na Tabela 6 os resultados referentes ao cobre (Cu) e ao manganês (Mn). No teor de Cu observa-se similaridade de resultados entre classes sendo quantificados teores entre $11,5 \pm 0,2$ – $32,6 \pm 0,2$ µg/g. No Mn, destacam-se as espécies *P. tenera*, *F. vesiculosus* e *E. arborea* com valores compreendidos entre $145,1 \pm 0,4$ µg/g e $235,3 \pm 1,2$ µg/g. Os restantes valores são inferiores a $43,2 \pm 0,6$ µg/g.

Generalizando, da análise mineral observa-se que as algas castanhas apresentam teores mais elevados de minerais, tendo-se verificado anteriormente que o teor em cinza também foi superior nas algas castanhas.

Nisizawa (2002) mencionou que as **macroalgas têm entre 10 a 100 vezes mais minerais** quando comparadas com os vegetais tradicionais, valores que se confirmam com os resultados deste estudo. Diferenças na composição mineral podem ainda ser observadas entre as classes de macroalgas e dependem de fatores geográficos, ambientais e variações sazonais.

As algas, assim como os moluscos, têm uma grande capacidade para acumular diversos metais pesados. Inclusive é esta uma das razões que os torna um bioindicador da contaminação do ambiente marinho (Riget *et al.*, 1997). A contaminação por metais pesados é um aspeto que está diretamente relacionado com a segurança do consumidor perante a ingestão deste tipo de alimentos (Almeda *et al.*, 2006). A França, EUA, Austrália e Nova Zelândia têm estabelecidos um conjunto de normas legais no que diz respeito à presença de elementos tóxicos em algas edíveis (Mabeau e Fleurence, 1993). Mas nem a União Europeia, nem Portugal apresentam legislação nesta área. No entanto, a Comissão Europeia tem um regulamento em que estabelece limites legais para contaminantes em alimentos, pelo que se terá como referência os valores legais legislados para a classe dos moluscos, uma vez que tal como as algas absorvem todo o tipo de minerais presentes no seu ambiente marinho.

Na Tabela 7 apresentam-se os resultados referentes à análise dos metais pesados.

As amostras apresentam teores em cádmio (Cd) inferiores a 10 µg/g, exceto a *P. palmata* com cerca de 17 µg/g. O mercúrio (Hg) é em todas as espécies inferior a 0,35 µg/g, e a concentração de chumbo (Pb) inferior a 5 µg/g.

Os valores de Cd, Hg e Pb no regulamento europeu, são apresentados em mg/kg de peso húmido. Uma vez que os resultados do presente estudo estão expressos em peso seco de amostra, e sabendo que 100 g de alga seca correspondem a cerca de 800 g a 1 kg de algas demolhadas, os valores obtidos para estes metais pesados são inferiores aos limites legais legislados para a classe dos moluscos, de 1,0 mg/kg para o Cd e Hg e 1,5 mg/kg para o Pb (European Commission, 2006). Com exceção da *P. palmata* que excede o valor limite legal para a presença de Cd.

Tabela 7. Composição em metais pesados das algas analisadas.

		Metais Pesados			
	Amostras	Cd ($\mu\text{g/g}$)	Hg ($\mu\text{g/g}$)	Pb ($\mu\text{g/g}$)	As ($\mu\text{g/g}$)
Algas Castanhas	L.J. ^g	0,64 \pm 0,03	0,21 \pm 0,01	1,61 \pm 0,01	114,2 \pm 5,6
	L.J. ^j	0,76 \pm 0,00	0,13 \pm 0,03	1,13 \pm 0,03	63,9 \pm 0,6
	U.P. ^g	1,29 \pm 0,02	0,23 \pm 0,04	4,29 \pm 0,03	63,2 \pm 0,1
	U.P. ^j	8,70 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	1,80 \pm 0,02	80,6 \pm 1,4
	H.F. ^{j1}	2,15 \pm 0,06	0,20 \pm 0,00	2,75 \pm 0,02	155,1 \pm 0,9
	H.F. ^{j2}	3,64 \pm 0,02	0,21 \pm 0,01	3,40 \pm 0,04	203,0 \pm 0,1
	Hm. ^g	3,04 \pm 0,16	0,27 \pm 0,04	1,42 \pm 0,02	61,5 \pm 0,1
	F.V. ^f	2,77 \pm 0,17	0,19 \pm 0,03	4,71 \pm 0,05	76,0 \pm 1,4
Algas Vermelhas	P.T. ^g	9,31 \pm 0,19	0,12 \pm 0,03	3,35 \pm 0,04	11,8 \pm 0,1
	P.T. ^j	1,12 \pm 0,00	0,18 \pm 0,03	1,66 \pm 0,01	26,2 \pm 0,0
	E.A. ^j	1,53 \pm 0,08	0,18 \pm 0,04	1,29 \pm 0,02	72,0 \pm 0,6
	E.B. ^j	4,65 \pm 0,10	0,34 \pm 0,02	1,91 \pm 0,05	77,8 \pm 0,1
	P.P. ^g	16,78 \pm 0,06	0,19 \pm 0,05	2,40 \pm 0,10	16,7 \pm 0,1
Os valores são dados através da média \pm DP (n=3).					

Como se pode constatar os valores obtidos para o arsénio (As) foram bastante superiores aos dos restantes metais pesados. Como se sabe, o arsénio tem efeitos negativos na saúde humana, pelo que é importante a sua quantificação, principalmente neste tipo de alimentos. Nas algas vermelhas a variação observada foi de 11,8 \pm 0,1 – 77,8 \pm 0,1 $\mu\text{g/g}$. Nas algas castanhas o teor é superior (entre 61,5 \pm 0,1 – 203,0 \pm 0,1 $\mu\text{g/g}$), tendo-se obtido valores mais elevados nas espécies *L. japonica* e *H. fusiforme*, ambas do Japão.

Os valores de As obtidos nas algas em estudo, são inferiores aos do estudo de Besada *et al.* (2009). O As não pode ser comparado com valores legislados pois não se encontram disponíveis para alimentos marinhos.

4.2. ANÁLISE DO PERFIL ANTIOXIDANTE

As propriedades antioxidantes consistem em retardar a oxidação de vários compostos "importantes para a vida", inibindo a iniciação ou a propagação de reações em cadeia (Amarowicz *et al.*, 2004). Desde a prevenção de reações de oxidação em alimentos, medicamentos e cosméticos até ao papel das espécies reativas de oxigénio (ROS) em doenças como o cancro, doenças cardiovasculares, inflamatórias, neurodegenerativas e autoimunes, a atividade antioxidante é fundamental para retardar qualquer um dos casos (Magalhães *et al.*, 2008). Estudos epidemiológicos demonstraram uma relação direta entre o consumo de produtos ricos em antioxidantes e a diminuição da morbilidade e mortalidade (Huang *et al.*, 2005). As evidências que implicam o stresse oxidativo no desenvolvimento de diversas doenças e desequilíbrios conduzem ao reconhecimento do papel dos antioxidantes na preservação da saúde humana e na prevenção e ajuda no tratamento de doenças (Niki, 2010).

Os compostos fenólicos são considerados um dos grupos mais importantes a contribuir para a atividade antioxidante. O consumo de alimentos ricos neste tipo de compostos contribui para a prevenção de doenças (Cartea *et al.*, 2011). A sua presença relaciona-se com características sensoriais dos alimentos, como a cor, o sabor e o aroma. Estes compostos estão presentes em vários alimentos como o chá verde, chá preto, café, hortofrutícolas, azeite, vinho e chocolate, em quantidades apreciáveis (Silva *et al.*, 2007).

Os resultados da análise aos compostos fenólicos apresentados na Tabela 8 estão expressos em equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/100 g de amostra. Numa primeira análise observam-se diferenças entre algas castanhas e vermelhas, sendo no geral, as primeiras mais pobres nestes. As algas castanhas apresentam variações de $44,3 \pm 1,0$ – $123,7 \pm 9,3$ mg EAG/100 g, sendo exceção ao grupo a *Himanthalia* com $496,1 \pm 8,5$ mg EAG/100 g e a *F. vesiculosus* com $1228 \pm 6,7$ mg EAG/100 g. Relativamente às algas vermelhas os valores situam-se entre $243,9 \pm 2,1$ – $552,8 \pm 2,1$ mg EAG/100 g. Contudo, as algas do género *Eisenia* são exceção apresentando resultados bastante elevados de $3079,5 \pm 89,9$ mg EAG/100 g e $3559,0 \pm 26,1$ mg EAG/100 g.

Os resultados obtidos demonstram que a concentração total de polifenóis nas algas varia bastante de acordo com a espécie. Depende ainda de variáveis como as condições ambientais do local de origem e da época de colheita (Quirós *et al.*, 2010).

Tabela 8. Resultados da avaliação dos compostos bioativos e da atividade antioxidante das algas analisadas.

Amostras	Fenólicos totais (mg EAG/100 g)	DPPH• (% inibição)	FRAP (μ M ESF/100 g)	Clorofilas (mg/100 g)	Carotenoides (mg/100 g)
Algas Castanhas	L.J. ^g	78,1 \pm 1,8	32,9 \pm 6,3	1044,4 \pm 8,0	18,65 \pm 0,19
	L.J. ^j	44,3 \pm 1,0	22,5 \pm 2,4	580,8 \pm 12,7	47,14 \pm 0,36
	U.P. ^g	52,3 \pm 0,6	13,1 \pm 1,2	664,2 \pm 10,8	94,33 \pm 10,64
	U.P. ^j	66,3 \pm 0,6	8,2 \pm 1,4	844,4 \pm 6,2	28,32 \pm 0,06
	H.F. ^{j1}	101,8 \pm 5,2	20,7 \pm 2,7	1619,4 \pm 72,3	9,13 \pm 0,96
	H.F. ^{j2}	123,7 \pm 9,3	22,2 \pm 2,8	2839,4 \pm 136,5	15,88 \pm 0,18
	Hm. ^g	496,1 \pm 8,5	14,3 \pm 2,0	4372,5 \pm 25,0	12,96 \pm 0,94
	F.V. ^f	1228,0 \pm 6,7	15,7 \pm 0,0	8803,8 \pm 120,4	32,73 \pm 1,74
Algas Vermelhas	P.T. ^g	457,3 \pm 12,4	12,5 \pm 1,4	1985,0 \pm 45,1	20,78 \pm 2,00
	P.T. ^j	552,8 \pm 2,1	15,8 \pm 1,5	2310,0 \pm 12,5	140,14 \pm 2,34
	E.A. ^j	3079,5 \pm 89,8	54,2 \pm 12,1	46612,5 \pm 1000,0	15,80 \pm 1,36
	E.B. ^j	3559,0 \pm 26,1	54,4 \pm 12,6	49268,8 \pm 582,1	21,85 \pm 0,87
	P.P. ^g	243,9 \pm 2,1	6,1 \pm 0,3	1191,3 \pm 10,8	1,16 \pm 0,22

Os valores são expressos através da média \pm DP (n=3).

Os elevados valores obtidos nos compostos fenólicos nas espécies *E. arborea*, *E. bicyclis*, e *F. vesiculosus* permitem antever o resultado na atividade antioxidante, que se espera que também seja mais elevado nestas espécies do que nas restantes. De facto, a correlação obtida entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante (DPPH• e FRAP) é bastante elevada como é possível verificar pelas Figuras 3 e 4.

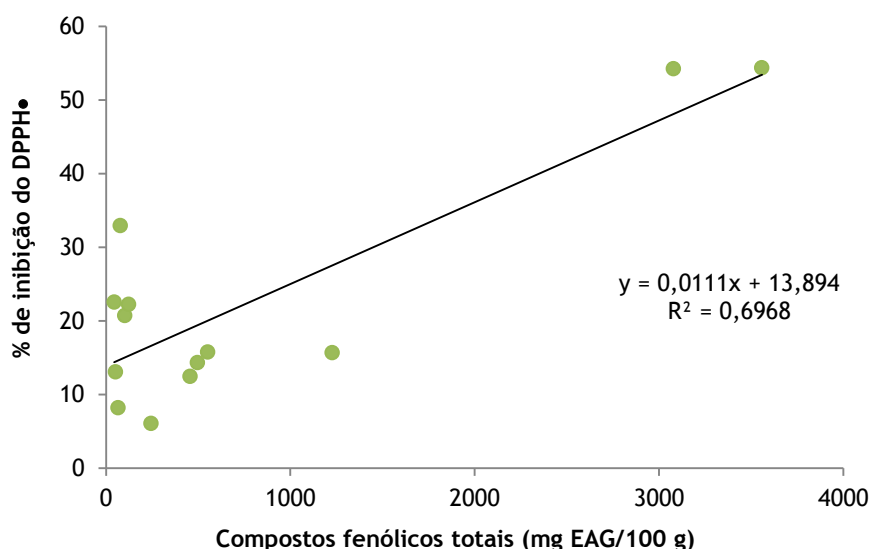


Figura 3. Correlação entre os compostos fenólicos totais (mg EAG/100 g de amostra) e a % de inibição do DPPH•.

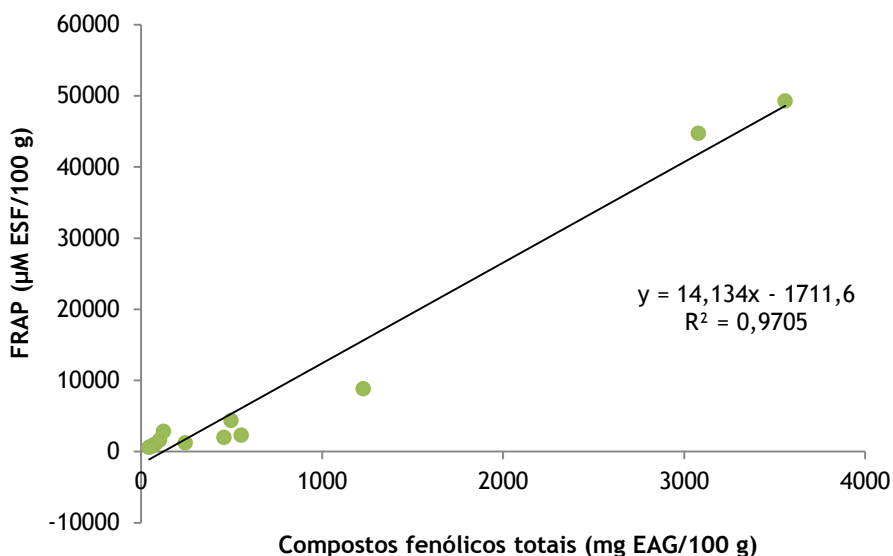


Figura 4. Correlação entre os compostos fenólicos totais (mg EAG/100 g de amostra) e o FRAP (μM ESF/100 g de amostra).

Os resultados da análise da capacidade antioxidante estão apresentados na Tabela 8 e expressos em % de inibição do radical DPPH e em equivalentes de sulfato ferroso (μM ESF)/100 g de amostra.

Como seria de esperar, observa-se que as espécies *E. arborea* e *E. bicyclis*, foram as que mais se destacaram quer no ensaio do poder redutor (FRAP) com $46612,5 \pm 1000,0$ μM ESF/100 g e $49268,8 \pm 582,1$ μM ESF/100 g, como também são as espécies que tem mais capacidade de reduzir o radical DPPH obtendo valores máximo de inibição de 54%.

Nas restantes espécies, obtiveram-se valores inferiores para ambos os ensaios da atividade antioxidante. Na inibição do DPPH• os resultados situaram-se entre $6,1 \pm 0,3\%$ e $22,5 \pm 2,4\%$ enquanto no ensaio do FRAP variaram entre $844,4 \pm 6,2$ – $8803,8 \pm 120,4$ μM ESF/100 g de amostra.

Segundo Pereira (2009) e Pangestuti e Kim (2011), a pigmentação nas macroalgas castanhas é devida a clorofilas e carotenoides onde domina a fucoxantina, responsável pela coloração acastanhada, existindo muita diversidade de coloração, de castanho a castanho esverdeado; as algas vermelhas possuem como pigmentos fotossintéticos clorofilas, ficobilinas e carotenoides (β-caroteno, luteína e zeaxantina) podendo ter uma tonalidade castanha, castanha escura ou quase negra, outras são claramente vermelhas.

De acordo com os resultados presentes na Tabela 8 observaram-se similaridades de resultados entre as classes de macroalgas alvo de análise. Relativamente às clorofilas e aos carotenoides, conclui-se que os carotenoides apresentam valores inferiores aos das clorofilas.

Nas algas castanhas, não é possível relacionar os valores obtidos quer com as espécies quer com a origem, uma vez que os valores variam nas clorofilas de $9,13 \pm 0,96$ – $94,33 \pm 10,64$ mg/100 g, e nos carotenoides entre $0,57 \pm 0,11$ – $12,15 \pm 0,57$ mg/100 g sendo o valor mais baixo obtido para *H. fusiforme* do Japão e o valor mais elevado para a *U. pinnatifida* da Galiza. No caso das algas vermelhas verifica-se a mesma relação. A *P. palmata* da Galiza é a espécie que obtém os valores mais baixos para ambos os pigmentos fotossintéticos, de $1,16 \pm 0,22$ mg/100 g para as clorofilas e $0,04 \pm 0,01$ mg/100 g para os carotenoides; contrariamente, a *P. tenera* do Japão obtém os valores mais elevados para as clorofilas e carotenoides, $140,14 \pm 2,34$ mg/100 g e $34,05 \pm 1,04$ mg/100 g de amostra, respetivamente.

As clorofilas e os carotenoides também estão correlacionados, como é possível verificar na Figura 5.

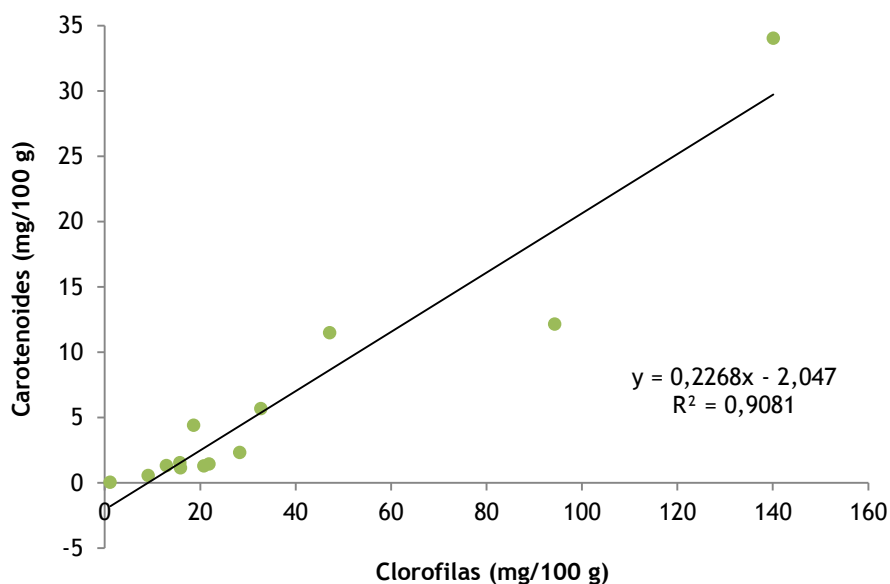


Figura 5. Correlação entre as clorofilas (mg/100 g de amostra) e os carotenoides (mg/100 g de amostra).

Analisou-se ainda a contribuição destes pigmentos fotossintéticos para a atividade antioxidante e conclui-se que estes têm um baixo contributo para a atividade antioxidante.

Os estudos realizados demonstram que a atividade antioxidante das algas deve-se maioritariamente aos compostos fenólicos, indo de encontro aos estudos de Kumar *et al.* (2008).

Uma das grandes dificuldades em comparar os valores obtidos para os compostos bioativos e para a atividade antioxidante deste trabalho com os valores obtidos em outros estudos é a falta de uniformidade dos padrões utilizados nas várias técnicas, bem como também as técnicas que podem ser utilizadas com o mesmo intuito.

5. CONCLUSÕES

O valor nutricional desta matriz alimentar, elevado teor proteico, mineral, hidratos de carbono, dos quais maioritariamente fibra dietética, baixo teor em gordura e valor calórico podem contribuir para uma dieta saudável e equilibrada, se ingeridas regularmente.

Os resultados deste estudo comprovam a riqueza nutricional deste alimento, permitindo afirmar que são uma fonte rica e promissora de minerais e até uma fonte alternativa de proteína.

Por estes motivos é difícil compreender a falta de desenvolvimento na utilização de macroalgas como alimento nos países ocidentais. Uma explicação pode advir do facto de não estar enraizada na tradição alimentar dos países europeus, incluindo Portugal. Contudo, a sua introdução na dieta alimentar poderia trazer tantos ou mais benefícios, quando comparado com outros alimentos como os vegetais tradicionais. Acresce ainda o facto da versatilidade com que estas podem ser utilizadas na cozinha ocidental.

Com a possível aceitação deste alimento pelo consumidor, será interessante progredir o estudo para a caracterização das espécies de macroalgas da orla costeira portuguesa e avaliar as possibilidades da sua introdução na dieta alimentar. Poder-se-iam assim aproveitar os recursos naturais existentes, promovendo uma exploração sustentável destas espécies marinhas da costa nacional e dar resposta à necessidade crescente de fontes alimentares.

Devido às propriedades apresentadas pelas macroalgas e considerando a sua diversidade, estas podem ser utilizadas em diversos setores com uma aplicabilidade mais direcionada para a indústria alimentar, farmacêutica e cosmética.

5.1. PERSPETIVAS DE TRABALHO FUTURO

Considerando os resultados obtidos e verificando o elevado teor proteico, é de todo o interesse analisar a composição em aminoácidos essenciais e não essenciais das macroalgas edíveis. Também os hidratos de carbono são uma fonte a ser explorada, de modo a confirmar a presença de elevado teor de fibra dietética.

Outros estudos em macroalgas da costa portuguesa deverão ser efetuados de forma a comparar os valores destas com as algas comerciais e a sua eventual possibilidade de introdução no mercado alimentar, bem como a sua exportação.

De forma a complementar os estudos alimentares de caracterização na procura de alimentos funcionais, torna-se fundamental efetuar ensaios de biodisponibilidade e bioacessibilidade dos nutrientes no organismo humano.

REFERÊNCIAS

- Almeda, C., Clemente, J., Vélez, D e M. Rosa. (2006). Total arsenic, lead and cadmium content in edible seaweed sold in Spain. *Food and Chemistry Toxicology*, **44**: 1901-1908.
- Alves, R.C., Casal, S. e Oliveira, M.B.P.P. (2009). Determination of Vitamin E in Coffee Beans by HPLC Using a Macro-extraction Method. *Food Sciency and Technology International*, **15**(1): 57-63.
- Alves, R.C., Jerez, A.M., Casal, S., Sineiro, J., Núñez, M. e Oliveira, B. (2010). Antiradical activity, phenolics profile, and hydroxymethylfurfural in espresso coffee: influence of technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**: 12221-12229.
- AOAC (2000). *Official methods of analysis of Association Of Analytical Chemistry*, 17^a ed. AOAC International, Maryland, EUA.
- Amarowicz, R., Pegg, R., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. e Weil, J. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, **84**: 551-562.
- Becker, E.W. (2007). Micro algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, **25**: 207-210.
- Benzie, I. e Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, **239**: 70-76.
- Besada, V., Andrade, J.M., Schultze, F. e González, J.J. (2009). Heavy metals in edible seaweeds commercialised for humam consumption. *Journal of Marine Systems*, **75**: 305-313.
- Bond, A. e Morrison-Saunders, A. (2011). Re-evaluating sustainability assessment: aligning the vision and the practice. *Environmental Impact Assessment Review*, **31**: 1-17.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. e Berset, C. (1995). Use of a Free-Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science and Technology*, **28**(1): 25-30.
- Büchi Labortechnik AG. (2007). Determination of Total Nitrogen in Fish Sticks accordinhg to Kjeldahl. Acedido em 4 de março de 2014. <http://www.buchi.com>
- Burtin, P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electronic journal of environmental, agricultural and food chemistry*, **4**: 498-503.

- Calder, P.C. e Grimble, R.F. (2002). Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Journal of Clinical Nutrition*, **56**: 14-19.
- Cardozo, K.H.M., Guaratini, T., Barros, M.P., Falcão, V.R., Tonon, A.P. e Lopez, N.P. (2007). Metabolites from algae with economic impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, **146**: 60-78.
- Cartea, M.E., Francisco, M., Soengas, P. e Velasco P. (2011). Phenolic Compounds in *Brassica* Vegetables. *Molecules*, **16**: 251-280.
- Casal, S. e Oliveira, B. (2007). Fatty acids analysis by gas chromatography (GC), *Encyclopedia of Chromatography*, 2^a ed. Taylor & Francis 1-15.
- Costa, A.S.G., Alves, R., Vinha, A.F., Barreira, S.V.P., Nunes, M.A., Cunha, L.M. e Oliveira, M.B.P.P. (2014). Optimization of antioxidants extraction from coffe silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products* **53**: 350-357.
- Dawczynski, C., Schubert, R. e Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*, **103**: 891-899.
- Dracy-Vrillon, B. (1993). Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **44**; S23-S35.
- El Gamal, A.A. (2010) Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **18**: 1-25.
- European Commission. (2006). Regulation (CE) N° 1881/2006 Commission, December/19/2006, L(364).
- Falguera, V., Aliguer, N. e Falguera, M. (2012). An integrated approach to current trends in food consumption: Moving toward functional and organic products? *Food Control*, **26**: 274-281.
- FAO. (2012a). *The state of world fisheries and aquaculture 2012*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO. (2012b). *Food Energy - methods of analysis and conversion factors*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fernandes, T.J.R., Alves, R.C., Souza, T., Silva, J.M.G., Castro-Cunha, M., Valente L.M.P. e Oliveira, M.B.P.P. (2012). Lipid content and fatty acid profile of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles as affected by feed containing different amounts of plant protein. *Food Chemistry* **134**: 1337-1342.

- Fleurence, J., Gutbier, G., Mabeau, S. e Leray, C. (1994). Fatty acids from 11 marine macroalgae of French Brittany coast. *Journal of Applied Phycology*, **6**: 527-532.
- Fleurence, J., Moránçais, M., Dumay, J., Decottignies, P., Turpin, V. Munier, M., Garcia-Bueno, N. e Jaouen, P. (2012). What are the prospects for using seaweed in human nutrition and for marine animals raised through aquaculture? *Trends in Food Science and Technology*, **27**: 57-61.
- Freake HC. (2005). Zinc Physiology In. *Encyclopedia of Human Nutrition*. 2^a ed.
- Galland-Irmouli, A.V., Fleurence, J., Lamghari, R., Luçon, M., Rouxel, C., Barbaroux, O., Bronowichi, J.P., Villaume, C. e Guéant J.L. (1991). Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmate* (Dulse). *Journal of Nutrition and Biochemical*, **10**: 353-359.
- Garrow J.S., James W.P.T. e Ralph A. (1997). *Human Nutrition and Dietetics*. 8^a ed. Churchill Livingstone, Londres.
- Garson, M.J. (1989). Natural Products Reports. Biosynthetic studies on marine natural products. *The Royal Society of Chemistry* **6**: 143-170.
- Gressler, V., Yokoya, N.S., Fujii, M.T., Colepicolo, P., Filho, J.M., Torres, R.P. e Pinto E. (2010). Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. *Food Chemistry* **120**: 585-590.
- Herrmann, W. e Geisel, J. (2002). Vegetarian lifestyle and monitoring of vitamin B-12 status. *Clinica Chimica Acta*, **326**(1-2): 47-59.
- Holdt, S.L. e Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, **23**: 543-597.
- Huang, D., Ou, B. e Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**: 1841-1856.
- Instituto Adolfo Lutz. (1985). *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*, 3^a ed. São Paulo; IMESP.
- INSA, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. (2010). *Tabela da Composição de Alimentos (TCA)*. Acedido a 17 de junho de 2014. <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/Paginas/TabelaAlimentos.aspx>
- Lacey, J.V., Devesa, S.S. e Brinton, L.A. (2002). Recent trends in breast cancer incidence and mortality. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **39**: 82-88.

- Lélé, S.M. (1991). Sustainable development, a critical review. *World Development*, **19**(6): 607-621.
- Kaehler, S. e Kennish, R. (1996). Summer and winter comparisons in the nutritional value of marine macroalgae from Hong Kong. *Botanica Marinha*, **39**: 11-17.
- Kumar, C.S., Ganesan, P., Suresh, P.V. e Bhaskar, N. (2008). Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds - A review. *Journal of Food Science and Technology*, **45**: 1-13.
- Mabeau, S. e Fleurence J. (1993). Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science and Technology*, **4**: 103-107.
- MacArtain, P., Gill, C.I.R., Brooks, M., Campbell, R. e Rowland, I.R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition Reviews*, **65**: 535-543.
- MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G. e Garg, M.L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of science of Food and Agriculture*, **86**: 2046-2056.
- Maehre, H.K., Malde, M.K., Eilertsen, K.E. e Elvevoll, E.O. (2014). Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed. *Journal of the Science Food and Agriculture*, DOI 10.1002/jsfa.6681.
- Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Reis, S. e Lima, J.L. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, **613**: 1-19.
- McHugh, D.J. (1987). Production and utilization of products from commercial seaweeds. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome.
- Mišurcová, L., Machů, L. e Orsavová, J. (2014). Seaweed Minerals as Nutraceuticals. *Advances in Food and Nutrition Research*, **64**: 371-390.
- Murata, M. e Nakazoe, J. (2001). Production and use of marine algae in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly*, **35**(4): 281-90.
- Nagata, M. e Yamashita, I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Journal of the Japanese Society for Food Technology*, **39**(10): 925-928.
- Nelson, D.L. e Cox, M.M. (2005). *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4ª ed., Freeman, EUA.

- Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, **49**: 503-515.
- Nisizawa, K. (2002). Seaweed Kaiso, bountiful harvest from the seas. *Sustenance for health and well-being by preventing common life style related diseases*. Kochi University, Kochi.
- Ohno, M. e Largo, D.D. (1998). The seaweed resources of Japan. In Critchley AT, Seaweed Resources of the World. *Japan International Cooperation Agency*, Yokosuka: 1-14.
- Pangestuti, R. e Kim, S.K. (2011). Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *Journal of Functional Foods*, **3**(4): 255-266.
- Pereira, L. (2009). *Guia Ilustrado das Macroalgas*, Conhecer e reconhecer algumas espécies da flora portuguesa. Imprensa da Universidade de Coimbra, Portugal.
- Pinto, E., Almeida, A.A., Aguiar, A.A.R.M. e Ferreira, I.M.P.L.V.O. (2014). Changes in macrominerals, trace elements and pigments content during lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth: Influence of soil composition. *Food Chemistry* **152**: 603-611.
- Pisani, P., Bray, F. e Parkin, D. (2002). Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *International Journal Of Cancer*, **97**: 72-81.
- Plaza, M., Cifuentes, A. e Ibáñez, E. (2008). In the search of new functional ingredients from algae. *Trends in Food Science and Technology*, **19**: 31-39.
- Quirós, A.R-B., Lage-Yusty, M.A. e López-Hernández, J. (2010). Determination of phenolic compounds n macroalgae for human consumption. *Food Chemistry*, **121**: 634-638.
- Riget, F., Johannsen, P. e Asmund, G. (1997). Baseline level and natural variability of elements in three seaweed species from west Greenland. *Marine Pollution Bulletin*, **34**(3): 171-176.
- Sánchez-Machado, D.I., López-Cervantes, J., López-Hernández, J. e Paseiro-Losada, P. (2004a). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry* **85**: 439-444.
- Sánchez-Machado, D.I., López-Cervantes, J., López-Hernández, J., Paseiro-Losada, P. e Simal-Lozano, J. (2004b). Determination of uronic acid composition of seaweed dietary fibre by HPLC. *Biomedical Chromatography*, **18**: 139-166.

- Santha N.C. e Ackman R.G. (1990). Nervonic acid versus tricosanoic acid as internal standards in quantitative gas chromatographic analyses of fish oil longer-chain n-3 polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Journal of Chromatography Biomedical Sciences and Application*, **533**: 1-10.
- Seaweed Health Foundation. (2012) *Iodine Fact Sheet* of 6 June 2012. Acedido a 27 de junho de 2014. <http://www.seaweedhealthfoundation.org.uk/>
- Silva, E., Souza, J., Rogez, H., Rees, J. e Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, **101**: 1012-1018.
- Simopoulos, A.P. (2002). The importance of ratio omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **56**: 365-379.
- Skibola, C. (2004). The effects of *Fucus vesiculosos*, an edible brown seaweed, upon menstrual cycle length and hormonal status in three pre-menopausal women: a case report. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **4**: 10-17.
- Strickland, J.D.H. e Parsons, T.R. (1965). A manual of sea water analysis, with special reference to the more common micronutrients and to particulate organic material. *Fisheries Research Board of Canada*, 2ª ed. Ottawa, 203.
- Teas, J. (1981). The consumption of seaweed as a protective factor in the etiology of breast cancer. *Medical Hypotheses*, **7**: 601-613.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2013). *World Population Prospects: The 2012 Revision, Key Findings and Advance Tables*. Working Paper No. ESA/P/WP.227.
- USEPA. (3051A:2007). *Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils*. United States Environmental Protection Agency.
- Van Netten, C., Hopton Cann, S.A., Morley, D.R. e Van Netten, J.P. (2000). Elemental and radioactive analysis of commercially available seaweed. *Science of the Total Environment*, **255**: 169-175.
- White, P.J. e Broadley, M.R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets - iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, **182**: 49-84.
- Wognum, P.M., Bremmers, H., Trienekens, J., Vorst, J. e Bloemhof, J. (2011). Systems for sustainability and transparency of food supply chains - Current status and challenges. *Advanced Engineering Informatics*, **25**: 65-76.

- Yoshida Y., Niki E. e Noguchi N. (2003). Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. *Chemistry and Physics of Lipids*, **123**(1): 63-75.
- Zemke-White, W.L. e Ohno, M. (1999). World seaweed utilisation: An end-of-century summary. *Journal of Applied Phycology*, **11**: 369-376.

Anexo 1.

Tabela I. Informação nutricional presente nos rótulos das algas analisadas.

Amostra	Espécie	Desig. Comercial	Origem	Método preparação	Proteína (g/100 g)	Hid. Carbono (g/100 g)	Açúcares (g/100 g)	Fibra (g/100 g)	Lípidos (g/100 g)	Energia (Kcal)	Cálcio (mg/100 g)	Magnésio (mg/100 g)	Fósforo (mg/100 g)	Ferro (mg/100 g)	Iodo (mg/100 g)
L.J. ^g	<i>Laminaria japonica</i>	Kombu	Galiza	s/demolha	9,3	35,9	<0,5	30,5	0,1	243	----	----	----	----	----
L.J. ^j			Japão	s/indicação	8,9	67,1	----	----	0,9	140	----	----	----	----	----
U.P. ^g	<i>Undaria pinnatifida</i>	Wakame	Galiza	Demolhar 10'	22,7	46,8	----	35,5	1,5	280	1380	680	235	20	----
U.P. ^j			Japão	Demolhar 10-15'	18	41,8	----	----	4	138	----	----	----	----	----
H.F. ^{j1}	<i>Hijikia fusiforme</i>	Hiziki	Japão	Demolhar 15-20'	10,6	56,2	----	----	1,3	239	----	----	----	----	----
H.F. ^{j2}			Japão	Demolhar 30'	6,6	64,6	1,2	47,2	2,1	304	939	527	----	2	----
Hm. ^g	<i>Himanthalia</i>	Esparguete do mar	Galiza	Demolhar 30'	8,4	44,1	----	32,7	1,1	209	490	730	228	61	----
F.V. ^f	<i>Fucus vesiculosus</i>	Fucus	França	s/indicação	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
P.T. ^g	<i>Porphyra tenera</i>	Nori	Galiza	Demolhar 20'	29	43,1	----	34,7	0,3	280	----	----	----	----	----
P.T. ^j			Japão	s/demolha	41,1	3,2	0,5	41,6	0,3	180	330	360	----	20	----
E.A. ^j	<i>Eisenia arborea</i>	Arame	Japão	Demolhar 5'	11,2	68,4	----	----	3,2	128	----	----	----	----	----
E.B. ^j	<i>Eisenia bicyclis</i>		Japão	Demolhar 10-15'	9,7	7,2	1,5	61,3	0,7	74	1120	515	----	5	107
P.P. ^g	<i>Palmaria palmata</i>	Dulce	Galiza	Demolhar 2'	21,8	56	----	----	2	----	930	610	434	80	55

Anexo 2.

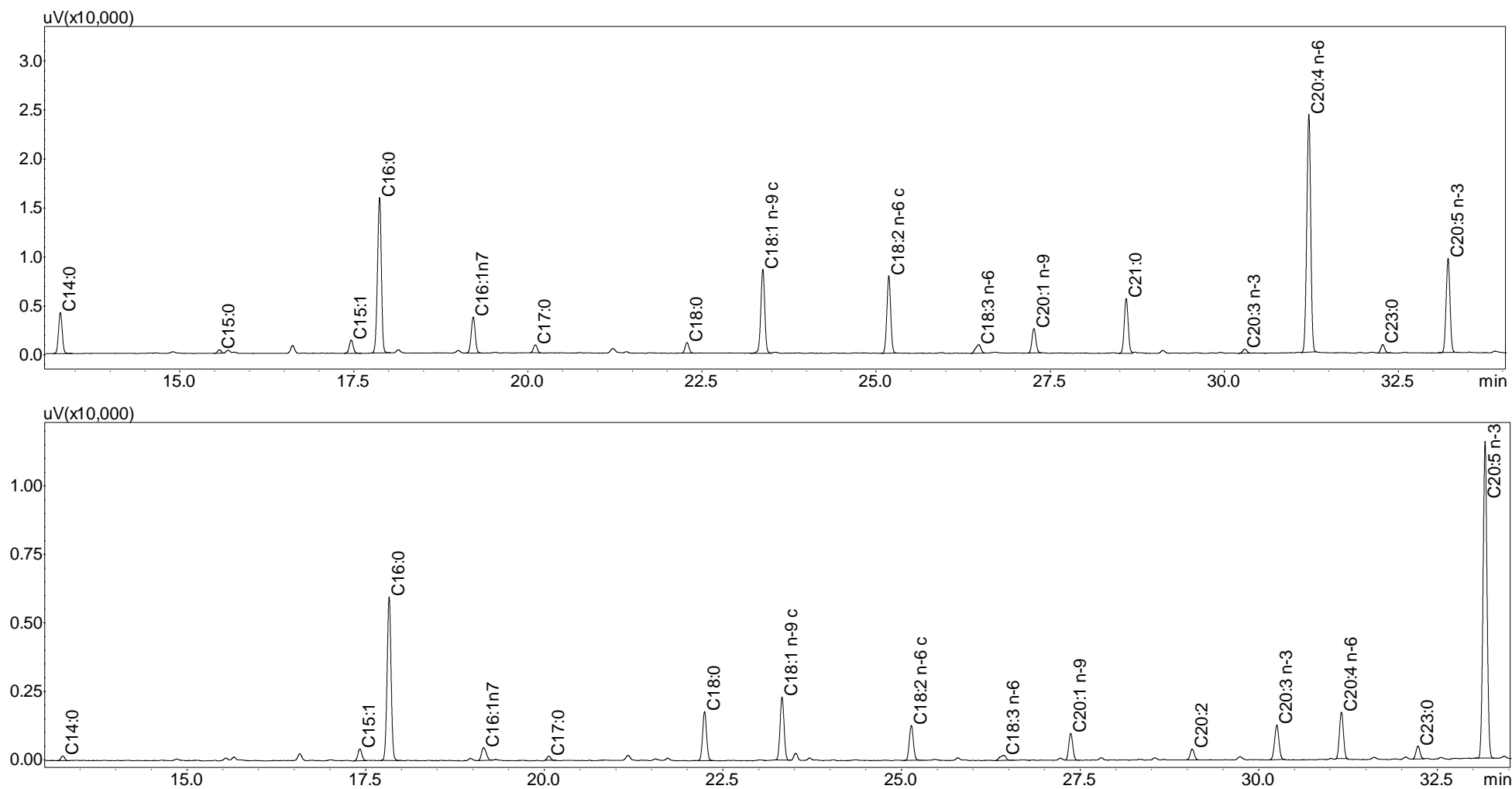


Figura I. Cromatogramas representativos da composição em ácidos gordos da macroalga castanha *Lamaria japonica* da Galiza (acima) e da macroalga vermelha *Porphyra tenera* do Japão (abaixo).

Anexo 3.

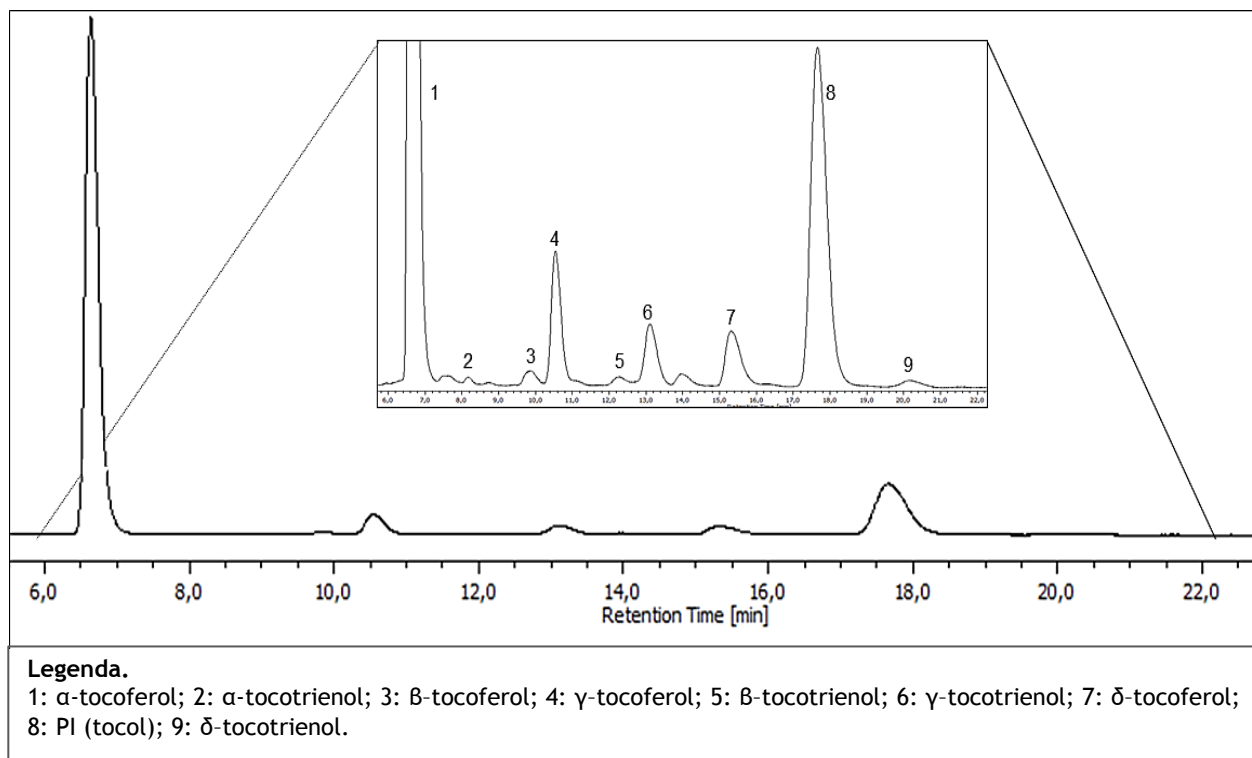


Figura II. Cromatograma representativo do teor em vitamina E da macroalga castanha *Himanthalia japonica*.

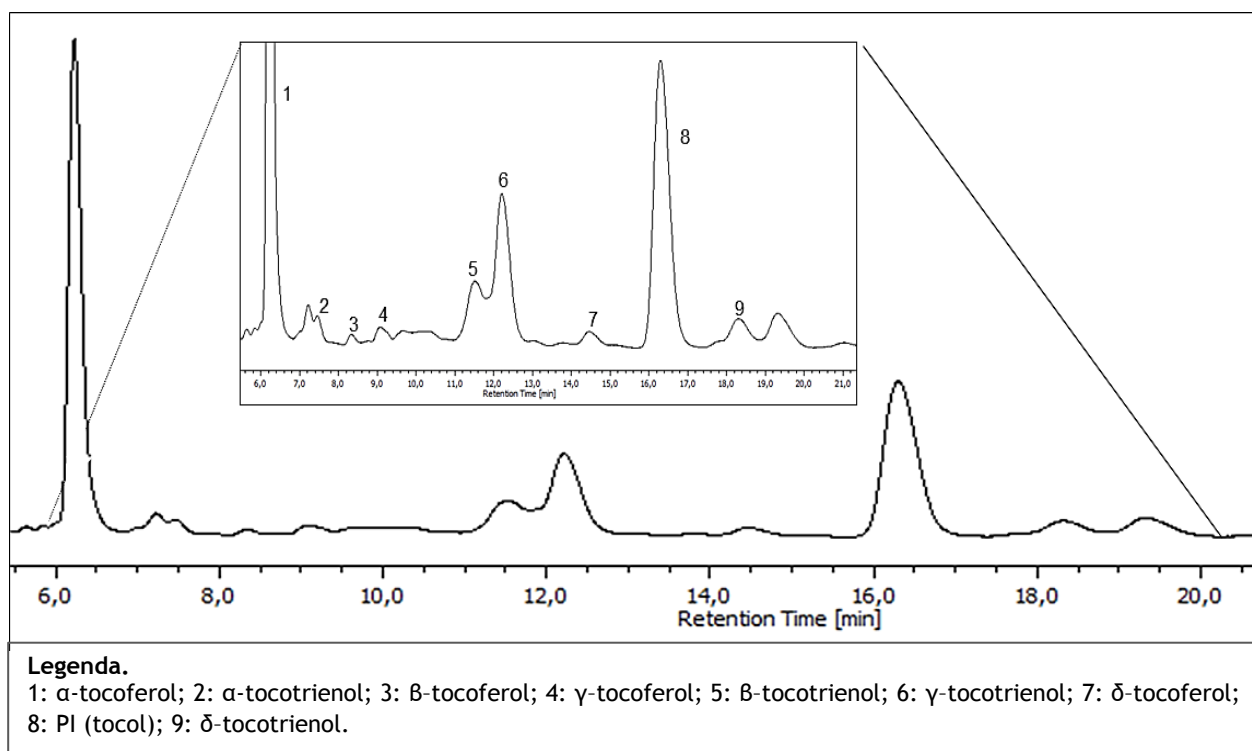


Figura III. Cromatograma representativo do teor em vitamina E da macroalga vermelha *Eisenia bicyclis* japonesa.